

Aus dem Institut für Medizinische Balneologie und Klimatologie
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. H. Drexel

Zur perkutanen Resorption der Salicylsäure durch Iontophorese
beim Menschen

I n a u g u r a l - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Roman Machens
aus
München

1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554825_0064

Aus dem Institut für Medizinische Balneologie und Klimatologie
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. H. Drexel

Zur perkutanen Resorption der Salicylsäure durch Iontophorese
beim Menschen

I n a u g u r a l - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Roman Machens
aus
München

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Drexel

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 9. April 1985

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Grundlagen
 - 2.1. Struktur der Haut
 - 2.2. Pharmakologie der Salicylsäure
 - 2.2.1. Geschichte
 - 2.2.2. Anwendung
 - 2.2.3. Pharmakokinetik
 - 2.2.4. Vorkommen in Nahrungsmitteln
 - 2.2.5. Toxikologie
 - 2.3. Grundlagen der Hautpermeation
 - 2.3.1. Parameter der Hautpermeation
 - 2.3.2. Messmethoden zur Hautpermeation
 - 2.4. Grundlagen der Iontophorese
3. Gegenwärtiger Stand der Forschung
 - 3.1. Perkutane Resorption der Salicylsäure
 - 3.2. Anwendungen der Iontophorese
 - 3.2.1. Gesicherte Anwendungen
 - 3.2.2. Interessante Einzelfälle
 - 3.2.3. Iontophorese bei rheumatischen Erkrankungen
 - 3.3. Iontophorese mit Salicylsäure
4. Methodik
 - 4.1. Probanden
 - 4.2. Versuchsdurchführung
 - 4.3. Analytik
 - 4.3.1. Fluorometrie
 - 4.3.1.1. Probenaufbereitung
 - 4.3.1.2. Kalibrierung
 - 4.3.1.3. Schwierigkeiten bei der Fluorometrie
 - 4.3.2. Ausbeuteprüfung
 - 4.3.3. HPLC
 - 4.3.3.1. Eigene Versuche mit HPLC
 - 4.3.3.2. Schwierigkeiten bei der HPLC
 - 4.3.3.3. HPLC im Auftragslabor

5. Ergebnisse
 - 5.1. Vergleich von Permeation und Iontophorese
 - 5.2. Ergebnisse beim Aufsättigungsversuch
 - 5.3. Nebenwirkungen
6. Diskussion
 - 6.1. Diskussion der Ergebnisse
 - 6.2. Anregungen für weitere Untersuchungen
 - 6.3. Folgerungen zur praktischen Anwendung der Iontophorese
7. Zusammenfassung
8. Literaturverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

GA	Gentisinsäure
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
HS	Hornschicht
HPR	Hautpermeationsrate
I	Iontophorese
P	Permeation
RFI	relative Fluoreszenz - Intensität
SHPR	Standard-Haut-Permeationsrate
SS	Salicylsäure
SU	Salicylursäure
Vp	Versuchsperson
Vpn	Versuchspersonen

1. Einleitung

Die Neueinführung pharmakologisch aktiver Substanzen scheint an eine natürliche Grenze gekommen zu sein. Die Pharmakologie der letzten Jahre interessiert sich immer stärker für alternative Applikationsformen. Auch die Applikation über die Haut ist in diesem Zusammenhang wieder interessant geworden. Erinnert sei hier an die Transdermalen Therapeutischen Systeme mit altbekannten Stoffen wie Glycerintrinitrat oder Scopolamin, die sich bald nach der Einführung als Verkaufserfolge erwiesen. Versucht man, die am Wirkort erreichbaren Konzentrationen bei perkutaner Applikation noch zu steigern, so ergeben sich bei Methoden wie Okklusion, Erhöhung der Fläche oder der Einwirkdauer bald natürliche Grenzen. Möglicherweise ist aber die Iontophorese eine Therapieform, mit der sich grössere Stoffmengen als bisher vermutet an den Wirkort bringen lassen, ohne dass eine hohe systemische Konzentration des Pharmakons nötig wird. Ein Hinweis darauf ist die kürzlich fertiggestellte Arbeit von PRATZEL und HILLMEIER (1984), in der an jungen Schweinen eine durch Iontophorese etwa 100fach erhöhte Absorption von Salicylsäure nachgewiesen wurde.

Die vorliegende Arbeit setzte sich zum Ziel, die Übertragbarkeit der genannten Ergebnisse von PRATZEL und HILLMEIER auf den Menschen zu überprüfen. Für die Anwendung am Menschen wurde die Salicylsäure in Urin und Serum chemisch mittels HPLC bestimmt. Bei sechs Versuchspersonen wurde die Salicylsäureausscheidung im Sammelurin bei Permeation und bei Iontophorese unter vergleichbaren Bedingungen bestimmt. Weil die Analyse der Messungen von PRATZEL und HILLMEIER ergab, dass die permeationssteigernde Wirkung der Iontophorese erst nach einer etwa halbstündigen Anlaufzeit einsetzt, wurde die Versuchsdauer von zunächst 30 auf 60 Minuten erhöht.

In einer weiteren Versuchsserie - angeregt durch die Arbeit von DASCH und Mitarbeitern (1983) - wurde versucht, mit täglicher Iontophorese durch Kumulation zu höheren Serumspiegeln zu kommen, um so Hinweise für den therapeutischen Einsatz der Iontophorese zu erhalten. Sechs Versuchspersonen wurden dazu fünf Tage lang mit Iontophorese behandelt.

Im Folgenden will ich zunächst einige Grundlagen, soweit sie für das Verständnis des Themas wichtig sind, erläutern. Daran schliesst sich ein Überblick über die gegenwärtig zu diesem Thema für mich auffindbare Literatur.

2.2. Pharmakologie der Salicylsäure

2.2.1. Geschichte

Die Salicylsäure (SS) wurde 1830 durch Ausfällung und Reinigung aus Weidenrindenextrakten gewonnen. Als Heilmittel bei Fieber war die Rinde verschiedener Weidenarten (botanisch Salix) allerdings schon seit dem Altertum bekannt. PIRIA bestimmte 1838 die Bruttoformel. Bis zur Synthese der Acetylsalicylsäure 1897 war die SS das wichtigste Fieber- und Rheumamittel. Heute hat die SS im Gegensatz zur Acetylsalicylsäure nur noch in Externa sowie in einigen Kombinationspräparaten medizinische Bedeutung. Die von HANGARTER (1974) ausgesprochene Hoffnung, "dass nach den Enttäuschungen der Cortisonbehandlung des Rheumatismus die Salicyltherapie bereichert durch zahlreiche neue Erkenntnisse ... wieder zunehmend ihre berechnete Beachtung findet", hat sich nicht erfüllt.

2.2.2. Anwendung

SS, chemisch 2-Hydroxybenzoesäure (MG = 138,1, Schmelzpunkt 156 - 160 °C) hat in Wasser eine Löslichkeit von 1,8 g/l bei 20 °C und von 12 g/l bei 70°C. Wie ihre Derivate wirkt sie antiphlogistisch, analgetisch und antipyretisch. Als Wirkungsmechanismus nimmt man heute wie für alle nichtsteroidalen Antirheumatika vor allem die Hemmung der Prostaglandinsynthese durch die Hemmung der Zyklooxygenase an. Zur Therapie rheumatischer Erkrankungen strebt man einen Blutspiegel von 0,2 - 0,3 g/l an, der für längere Zeit konstant bleiben soll. Die dafür notwendigen Tagesdosen werden mit 6 - 12g angegeben. Die Nebenwirkungen betreffen vor allem den Magen und entsprechen denen anderer Antiphlogistika.

Bei lokaler Anwendung der SS ist ab Konzentrationen über 3% ein keratolytischer Effekt nachweisbar. klinisch üblich sind dafür Konzentrationen von 10 - 20%. Dies gilt für die therapeutisch übliche Anwendung von Salben; in wässriger Lösung bewirken schon zehnfach kleinere Konzentrationen eine nachweisbare Keratolyse.

2.2.3. Pharmakokinetik

Die interindividuelle Variabilität der Pharmakokinetik von SS untersuchte EVANS (1961). Die Blutspiegel nach einer standardisierten Dosis Natriumsalicylat verteilen sich nach einer Gausskurve. Es scheint also keine klar abgrenzbaren Genotypen zu geben, wohl aber gibt es eine erhebliche Streuung. SS ist in Plasma zu 50 - 70% an Proteine gebunden. Sie wird zu mindestens 90% über die Niere ausgeschieden. Wie bei allen schwachen Säuren sinkt ihre Lipidlöslichkeit und damit die

Urin-clearance mit dem pH des Urins. Bei alkalischem Urin wird die SS zu 85% unverändert ausgeschieden, bei saurem dagegen nur zu 10% und zu 90% in Form ihrer Metabolite. Dabei handelt es sich um Glukuronide (<20%), Salicylursäure (SU, <70%), die in der Niere gebildet wird, und zu 1 - 2% um Gentisinsäure (GA), die pharmakologisch ebenfalls aktiv ist. Theoretisch können zwei Monoglukuronide gebildet werden, ein Ester und ein Amid. ALPEN et al. (zit. nach ROBINSON/WILLIAMS, 1956) wiesen diese beiden Formen im menschlichen Urin nach, ebenso CHAM und Mitarbeiter (1980) in einer Studie mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).

2.2.4. Vorkommen in Nahrungsmitteln

In manchen Nahrungsmitteln ist SS enthalten. Nach NOID (1974) sind in diesem Zusammenhang erwähnenswert: Mandeln, Kartoffeln, Tomaten und viele Obstsorten (u.a. Äpfel, Pfirsiche, Trauben, Orangen, Grapefruit, Melonen und die meisten Beeren). In vielen Pflanzen, die nicht als Nahrungsmittel dienen, wurde SS nachgewiesen. Ausserdem wird sie - zumindest in den USA - als Nahrungszusatz eingesetzt. Auch ohne medikamentöse Belastung wurden Serumspiegel bis zu 0,02 g/l nachgewiesen.

2.2.5. Toxikologie der Salicylsäure

Die toxische Grenzkonzentration im Serum liegt bei 0,35 g/l, allerdings können schon ab 0,10 g/l leichte Symptome auftreten. Der pharmakologisch wirksame und der toxische Bereich können sich also überlappen. Ab einer Serumkonzentration von 1,60 g/l gilt eine SS-Vergiftung als sicher tödlich. Wichtige Vergiftungssymptome sind: Ohrensausen, Erbrechen, Schweißausbruch und erhöhte Speichelsekretion, Kopfschmerzen und Schwindel. Es kommt zu Hyperventilation, Hyperthermie und zu euphorischen oder depressiven Reaktionen. Zur Therapie einer solchen Vergiftung kommen in Frage: äussere Abkühlung, forcierte Diurese, Dialyse, Alkalisierung des Urins durch Gabe von Natriumbikarbonat, solange der Urin noch sauer ist, Gabe von Vitamin K sowie KCl und Carbogen (4% CO₂ + 96% O₂).

2. Grundlagen

2.1. Struktur der Haut

Die bekannten Strukturen der Haut sind in Tabelle 1 aufgeführt

Tab. 1 Die Schichten der Haut

Epidermis = Oberhaut	Stratum corneum Stratum lucidum Stratum granulosum Stratum spinosum > Stratum Stratum basale > germinativum
Corium = Lederhaut	Stratum papillare Stratum reticulare
Subcutis = Fettgewebe	

Während die Epidermis aus dem Ektoderm stammt, entstehen Corium und Subcutis aus dem Mesoderm. Die Hornschicht (HS) besteht aus toten, keratinisierten Zellen. Ihre Dicke kann an den Palmar- und Plantarflächen bis 600 µm betragen (sonst 10-20 µm), wobei diese dickeren Schichten teilweise eine höhere Permeation (P) erlauben. Die Parenchymzellen der Epidermis sind die Keratinocyten. Je nach Schicht und Entwicklungsphase trifft man sie als Basalzellen, Stachelzellen, Körnerzellen oder Hornzellen. Die Hornschicht ist die Hauptdiffusionsbarriere der Haut, sowohl, was die Aufnahme, als auch, was die Abgabe von Stoffen durch die Haut angeht. Als Stratum corneum conjunctum bezeichnet man die zusammenhängende tiefere Lage der HS, als Stratum corneum disjunctum die leicht abschilfernden Schichten aus oberflächlichen Zellen. Diese Unterteilung ist rein praktischer Natur und bedeutet keine chemische oder anatomische Differenzierung. Die Haarfollikel und die Ausführungsgänge der Schweißdrüsen machen im Querschnitt weniger als 1 % der Hautoberfläche aus und tragen nur wenig zur Aufnahme von Stoffen bei.

2.3. Grundlagen der Hautpermeation

Die Permeation (P) durch die Haut ist ein rein passiver Vorgang, der den Diffusionsgesetzen folgt. Nach einer Verzögerungszeit tritt ein konstanter Massenfluss ein, für den folgende Beziehung gilt:

$$dm / dt = K \cdot dc \cdot A \cdot D \cdot VK$$

- dc Konzentrationsdifferenz $c' - c$
- c' Konzentration an der Hautoberfläche
- c Konzentration im Plasma
- m Masse
- t Zeit
- A betroffene Hautoberfläche
- D Diffusionskonstante
- VK Verteilungskoeffizient zwischen HS und Lösung
- K Proportionalitätskonstante

Die Triebkraft für die P ist die Konzentrationsdifferenz zwischen den beiden Kompartimenten beiderseits der HS.

Für die Proportionalitätskonstante, die sich aus obiger Formel ergibt, hat PRATZEL (1984) den Begriff Standard-Hautpermeationsrate (SHPR) geprägt.

$$SHPR = dm / (dt \cdot c \cdot A)$$

Die Hautpermeationsrate (HPR)

$$HPR = SHPR \cdot c$$

hat die Einheit $g / (qcm \cdot h)$ und hängt von der angewandten Konzentration ab.

2.3.1. Parameter der Hautpermeation

Im Folgenden sollen einige physiologische und physikalisch-chemische Parameter besprochen werden, die die Hautpermeation beeinflussen.

Hier sind zunächst die artspezifischen Unterschiede zu nennen. Die menschliche Haut (mit relativ wenig Haarfollikeln) gilt als weniger durchlässig als die der niederen Säugetiere. Das Schwein - biochemisch ein naher Verwandter - gilt dem Menschen in Bezug auf die Hautpermeation als gut vergleichbar.

Betrachten wir nun das einzelne Individuum, so ergeben sich weitere Einflussfaktoren. Die Imbibition der HS mit Wasser führt zu einer Quellung der Keratinocyten und zu einer erhöhten Permeabilität. Die Permeationserhöhung unter Okklusivverbänden beruht vor allem auf der Hydratation der HS durch die Perspiration.

Auch eine höhere Temperatur der HS müsste zu einer höheren Permeation führen. Der Q-10 für die Diffusion liegt zwischen 1,1 und 1,4, das heisst, eine Temperaturerhöhung von 37 °C auf 42 °C konnte die P für viele Substanzen um 13 % steigern. Dies spielt aber im physiologischen Bereich kaum eine Rolle.

Noch nicht eindeutig geklärt ist die Frage, ob eine Hyperämie der Haut unabhängig von der Temperaturerhöhung zu einer gesteigerten P führt. Denkbar wäre, dass die beschleunigte Zirkulation zu einem schnelleren Abtransport des permeierenden Stoffes aus der Haut führt. PRATZEL und HILLMEIER (1984) fanden bei Hyperämie durch Nicotinsäureester eine 14-fach höhere Resorption von Salicylsäure.

Der wichtigste Parameter für die Permeation ist eine Eigenschaft der permeierenden Stoffe, die als Amphiphilie bezeichnet wird, nämlich das Ausmass, in dem der Stoff sowohl lipid- als auch wasserlöslich ist. Der Stoff muss sich gut in der lipidhaltigen HS lösen, aber auch wieder leicht in das wässrige Milieu übertreten können. Die HS enthält hydrophile und hydrophobe Gruppen.

Wenn eine aufgebrachten Lösung auf Grund ihrer Pufferkapazität den pH der Haut beeinflussen kann, hat auch der pH der Lösung einen Einfluss auf die Permeation, da er die Lipidlöslichkeit der Inhaltsstoffe beeinflusst.

Die Permeationsrate aus Gemischen wie Salben und Cremes hängt von den Verteilungskoeffizienten zwischen den Phasen des Gemischs und der HS ab. Sie ist jedoch nicht vorhersagbar, sondern muss für jedes Gemisch experimentell geprüft werden.

2.3.2. Messmethoden zur Hautpermeation

Zur Bestimmung von Hautpermeationsraten wird in der älteren Literatur eine Methodik angewandt, die im anglo-amerikanischen Schrifttum "disappearance technique" heisst. Als Mass für die permeierende Stoffmenge wird dabei die Mengenabnahme des Stoffes an der Hautoberfläche bestimmt. Diese naturgemäss sehr kleinen Werte liegen meist nur wenig über den Nachweisgrenzen. Es lässt sich auch nicht unterscheiden, ob die verschwindende Stoffmenge nur an die Haut oder die Applikationskammer adsorbiert wurde, ob sie durch ein Leck entwichen ist, oder ob sie wirklich permeiert ist. Eine weitere Fehlerquelle kann durch die Verletzung der Haut durch das Ankleben der Applikationskammer entstehen. Diese Messmethode wurde auch von IPSEY (1963) angegeben, dessen Arbeiten oft als grundlegend zitiert werden. Ich darf mich hier PRATZEL anschliessen, der diese Arbeiten kritisch analysiert und die experimentellen Ergebnisse als kaum verwertbar bezeichnet. In neueren Arbeiten wird dieses Messverfahren kaum mehr angewandt. Ein zuverlässiges Verfahren, das aber nur ein statisches Bild liefern kann, ist die Autoradiographie. Sie zeigt die relative Verteilung von Radioisotopen in den einzelnen Strukturen der Haut, sagt aber nichts über den Fluss aus.

Aussagen über den Fluss durch die Haut erfordern eine pharmakodynamische Betrachtungsweise. Für manche Stoffe bietet sich die Beobachtung ihrer biologischen Wirkung im Organismus an. Für giftige Stoffe wird zum Beispiel die LD-50 bestimmt. Ein anderer Ansatz bestimmt die Konzentrationen in Organen, aus denen Proben entnommen werden. Bei Stoffen, deren Kinetik und Metabolismus gut bekannt sind, kann man aus der Exkretionsrate auf die Permeationsrate schliessen. Diese Methode wird in den meisten neueren Arbeiten angewendet. Auch für die vorliegende Arbeit erschien ein solcher Ansatz sinnvoll, da die Pharmakologie der SS gut erforscht ist.

2.4. Grundlagen der Iontophorese

Therapeutische Anwendungen der Iontophorese sind seit langem bekannt. Die Kenntnis der theoretischen Grundlagen ist dagegen noch weithin ungenügend. Einige wesentliche Tatsachen sollen im Folgenden besprochen werden. Von der Verwendung der Begriffe Iontotherapie, Elektrolyse, Ionophorese, Elektrophorese und Dielektrolyse für Iontophorese sollte im Interesse einer einheitlichen Terminologie abgesehen werden.

Iontophorese findet bei jeder Anwendung von Gleichstrom am menschlichen Körper statt, also auch im Stangerbad oder in Zellenbädern. Im engeren Sinn soll aber hier die gezielte Einbringung von Stoffen in den menschlichen Körper gemeint sein. Zur Applikation negativ geladener Stoffe legt man die Kathode über die betreffende Stelle der Haut, zum Einbringen von Kationen die Anode. Der Abstand zur Gegenelektrode spielt praktisch keine Rolle, da der Widerstand zwischen den beiden Elektroden vor allem durch den hohen Hautwiderstand (0,15-0,18 Ohm/qcm) bestimmt wird. Im Übrigen gelten bei der Iontophorese am lebenden Organismus die gleichen physikalischen Gesetze für die elektrolytischen Vorgänge wie in unbelebten Systemen.

Insbesondere ist die Erscheinung der Polarisierung zu beachten. An der metallenen Anode reichern sich Wasserstoff- und an der Kathode Hydroxylionen an. Für Anwendungen am Menschen ist es deshalb wichtig, zwischen die Elektrodenplatte und die Haut einen feuchten Schwamm zu legen, in dem die elektrolytischen Vorgänge stattfinden können. Dadurch werden Verätzungen der Haut weitgehend vermieden.

Die Polarisierung erzeugt eine Gegenspannung, die den Wirkungsgrad der Iontophorese reduziert. Dieser Effekt lässt sich reduzieren, indem man die Elektroden mit einer entsprechenden Schutzlösung versieht. Die Lösung an der Kathode, unter der während der I der pH-Wert steigt, wird vorher leicht angesäuert. Die Lösung an der Anode macht man entsprechend etwas alkalisch. IPSER (1963) empfiehlt 0,02 normale Lösungen.

Der wesentliche Unterschied zwischen Permeation und Iontophorese liegt darin, dass die Triebkraft der Permeation in einer Konzentrationsdifferenz besteht und die der Iontophorese in einer elektrischen Potentialdifferenz. Dementsprechend gelten verschiedene Formeln für den Stofftransport. Der für die Permeation definierte Begriff Standard-Hautpermeationsrate kann also streng genommen bei der I nicht angewandt werden. Vergleicht man jedoch Permeation und Iontophorese, so dient die SHPR als anschauliches Vergleichsmass (PRATZEL, 1984).

Die transportierte Ladungsmenge folgt bei der I der Formel von FARADAY:

$$Q = I \cdot t \quad (Q \text{ Ladung, } I \text{ Strom, } t \text{ Zeit}).$$

Massenfluss und Ladungsfluss sind bei der Iontophorese proportional. Daraus ergibt sich als theoretisch mögliches

Maximum des Stofftransportes durch Iontophorese ein Wert von 622 nmol/min bei einem Strom von 1 mA. Dieser Wert ist experimentell nie erreicht worden (PRATZEL, 1984).

Auch die Proportionalität zwischen Stofftransport und Ladungsfluss ist an der menschlichen Haut in vivo nicht nachweisbar. Ein wechselnder Teil des Ladungsflusses wird von den in der Haut zusätzlich vorhandenen Ionen übernommen. ZIGIR (1970, 1972) experimentierte mit Ionenaustauscher-Membranen und gibt an, dadurch den Anteil "parasitärer" Ionen verringern und die Permeationsraten vergrössern zu können. Diese Hinweise erscheinen es wert, weiter verfolgt zu werden.

In der Arbeit von IPSEY (1963) an toter, exzidierte Haut ist die Proportionalität von Ladungsfluss und Stofftransport in vitro nachweisbar, weil die Haut vorher über Stunden mit den betreffenden Ionen gesättigt wurde. Dieser Zustand ist in vivo nicht erreichbar.

Die durch den Gleichstrom erzeugte Wärmewirkung ist nach der Formel

$$Q = R \cdot I^2 \cdot t$$

proportional dem Widerstand R der betreffenden Hautpartie, dem Quadrat der Stromstärke I und der Anwendungszeit t. Ein Teilvorgang bei der Iontophorese ist die Kataphorese, die Wasserbewegung zur Kathode (REIN, 1924), die darauf beruht, dass das ortsfeste Keratin negativ geladen ist. Die Kataphorese ist umso höher, je schlechter die Lösung leitet.

GANGAROSA (1980) will einen zusätzlichen Teilvorgang nachgewiesen haben, den er Iontohydrokinese nennt. Nach seinen Ergebnissen bei Iontophorese von Kochsalzlösung wandern unter der Anode und der Kathode nicht nur Wasser, sondern auch Nichtelektrolyte in die Haut. GANGAROSA vermutet, dass das Na⁺-Ion in seiner Hydrathülle neben Wasser auch Nichtelektrolyte mitführt. Unter der Anode soll der Effekt stärker sein als unter der Kathode, was GANGAROSA auf die grössere Hydrathülle der Na⁺-Ionen gegenüber den Cl⁻-Ionen zurückführt.

Relative Kontraindikationen für Iontophorese sind Allergien, Hautläsionen, Dermatosen und Metallimplantate, besonders, wenn sie in Richtung des Stromflusses liegen. Hautläsionen und Wunden bieten nur einen geringen elektrischen Widerstand, müssen also einen höheren Stromfluss aushalten und reagieren, schmerzhaft. Falls solche Stellen von einer Elektrode bedeckt werden sollen, isoliert man sie mittels Vaseline.

Die Verträglichkeit wird durch die Stromdichte begrenzt, wobei 1 mA/qcm als Grenzwert gilt, über dem Verätzungen möglich sind, und der Strom für die meisten Menschen schmerzhaft wird.

3. Gegenwärtiger Stand der Forschung

3.1. Perkutane Resorption der SS

Die Tatsache, dass SS aus fetthaltigen Salben gut in die Haut eindringt, ist seit langem bekannt. Immer wieder wird auch - gerade bei Kindern und Hautkranken - vor der Gefahr der Salicylatvergiftung gewarnt (LINDSEY 1968, PASCHER 1973). Über die Grösse der Resorption aus wässrigen Lösungen herrscht dagegen noch weithin Unklarheit, obwohl niedrig konzentrierte salicylathaltige Badezusätze in der Rheumatherapie weit verbreitet sind. Über den Stand der Forschung informiert die folgende Literaturübersicht.

MÜLLER (1932) wandte Salhuminbäder (SS mit salicylierten Huminsäuren) bei chronischen Gelenkerkrankungen gemeinsam mit einer intrakutanen Reizkörpertherapie und anderen physikalischen Verfahren an. Zum Salicylnachweis im 24 - Stunden - Sammelurin wurde dieser mit Petroläther-Chloroform ausgeschüttelt ("Methode nach SAUERLAND"). "In fast allen Fällen" sei die SS "nachweisbar" gewesen. Die Badedauer betrug 15 - 25 Minuten, aber weitergehende Angaben fehlen völlig.

HOPMANN (1939) untersuchte, ob Kohlensäure die Permeation von SS durch die menschliche Haut erleichtert. Verglichen wurde die SS - Ausscheidung im 24-Stunden-Sammelurin nach einem Süsswasser- und einem Kohlensäurebad von je 20 Minuten Dauer und mit je 50 g SS - Zusatz. Der Nachweis sei nach den Angaben von BENZINGER und WIRSCH (1939) und SAUERLAND erfolgt.

Von 8 Versuchspersonen zeigten fünf einen Anstieg der so gemessenen Salicylatausscheidung im Kohlensäurebad, zwei keine Veränderungen und eine einen deutlichen Abfall. Daraus leitet HOPMANN eine durch Kohlensäure erhöhte Permeation ab. Vergleicht man jedoch die von HOPMANN nicht ausgerechneten Mittelwerte, so ergibt sich mit Tagesausscheidungen von 15.3 mg für Süsswasserbad und 14.7 mg für Kohlensäurebad kein signifikanter Unterschied. Wenn man unterstellt, dass für ein Vollbad, wie HOPMANN es anscheinend durchgeführt hat, mindestens 250 l Wasser erforderlich sind, so ergeben sich bei einer Konzentration von 0,2 g/l und nur 20 Minuten Badedauer Werte der SHPR von etwa 2 $\mu\text{l}/\text{qcm h}$, um einen Faktor 10-1000 höher als die neueren Messwerte von PRATZEL (1984). Diese ältere Arbeit unterscheidet sich von den meisten experimentellen Arbeiten dieser Epoche dadurch, dass die Rohdaten angegeben werden.

HANGARTER (1951, S.23) zitiert in seiner Monographie zwei weitere Arbeiten, die für uns nicht auffindbar waren (MONCORPS, HELMREICH) mit negativen SS-Nachweisen sowie eine Arbeit, in der man 180 mg SS nachgewiesen haben will(BOHNENKAMP). HANGARTER führt diese Differenzen wohl zu Recht auf die angewandte Analytik zurück. Zum grössten Teil fehlen auch genaue Angaben über Konzentrationen und Nachweisverfahren.

HANGARTER (1951) experimentierte mit intravenöser (hohe toxische Blutspiegel) und rektaler Applikation (uneinheitliche Wirkung). Ausserdem untersuchte er die perkutane SS-Aufnahme in heissen Bädern. Er macht folgende Angaben über die Versuchsbedingungen: 20 Minuten Badedauer, 50-150 g SS im Bad (ohne Konzentrationsangaben), erzielbare Blutspiegel unterhalb der Nachweisgrenze von 0,01 g/l (= 1 mg%). auch im Urin keine SS nachweisbar.

PRATZEL (1984) untersuchte den perkutanen Transport der SS am Menschen mittels radioaktiv markierter Isotope. Diese Arbeit ist in der vorliegenden Literatur die einzige, die mit wirklich exakten Fragestellungen und Ergebnissen aufwartet. PRATZEL wies an Hand von Hornhautabdrissen mit Klebestreifen nach, dass sich die SS in der Hornschicht gegenüber einer wässrigen Lösung sehr schnell auf das 4,4-fache anreichert. Bei einer SS-Konzentration von 0,74 g/l fand sich eine Einlagerung von 1 - 4 $\mu\text{l}/\text{qcm}$ in der Hornschicht, was auf den gesamten Körper bezogen je nach Körperoberfläche etwa 30 mg ergeben würde. Innerhalb der Hornschicht fand sich eine exponentielle Abnahme der SS-Konzentration, und zwar bei einem Flächengewicht von 0,5 mg Keratin/qcm auf ein Zehntel und bei 1 mg/qcm auf ein Hundertstel. In fünf Versuchen mit isolierten Stratum corneum conjunctum - Häutchen, die zwischen Zigarettenpapier als Träger der geprüften Lösung lagen, ergaben sich je nach Dicke der Hornschicht Permeationszahlen von 0,002 - 0,12 $\mu\text{l}/\text{qcm h}$ (Abb. 1).

Des weiteren bestimmte PRATZEL die Halbwertszeiten der SS-Ausscheidung nach intrakutaner Injektion (Abb. 2). PRATZEL und eine weitere Versuchsperson liessen radioaktiv markierte SS eine Stunde lang auf ihre Rückenhaut einwirken. Es ergaben sich Permeationsraten von 0,17 und 0,54 $\mu\text{l}/\text{qcm h}$. In einem 20 Tage dauernden Versuch zur Nachresorption aus der Hornschicht ergab sich auf ein 60-minütiges Vollbad mit einer Konzentration von 0,74 g/l bezogen ein Hornhautdepot von 17 mg. Davon werden 7 mg am ersten Tag ausgeschieden. Diese aus Messungen im Urin errechnete Zahl stimmt gut mit den aus Hornhautabdrissen gewonnenen Depositionszahlen überein. Durch tägliches einstündiges Baden wäre eine tägliche Ausscheidung von bis zu 17 mg erreichbar.

In einer erst 1983 erschienen methodisch sauberen Arbeit am Menschen untersuchten DASCH, BRAUN und NOWACK die Resorption von SS aus Mobilatsalbe mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). Bei täglich zweimal erfolgender Salbenapplikation stellte sich bereits am zweiten Tag ein steady state mit einem Plasmaspiegel von 0,2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ein. Die Gesamtsalicylatausscheidung im Urin blieb nach dem dritten Tag konstant auf 12 mg pro Tag. An dieser Studie nahmen 7 Versuchspersonen teil. Die Ergebnisse bestätigen PRATZEL's Ergebnisse über die Kinetik der Salicylsäure.

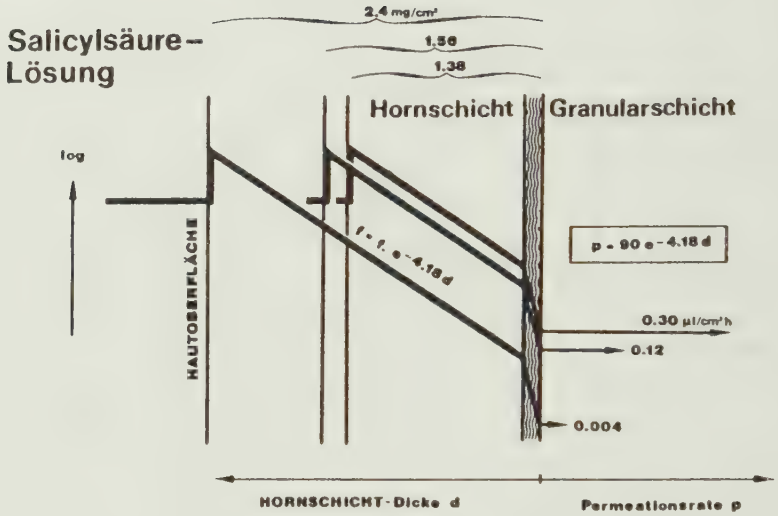


Abb. 1: Permeation der Salicylsäure bei verschiedener Hornschichtdicke (nach PRATZEL)

PERCUTANE KINETIK der SALICYLSÄURE

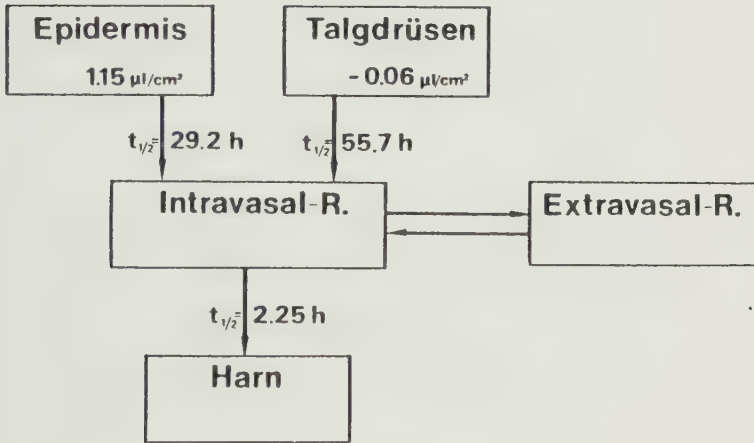


Abb. 2: Perkutane Kinetik der Salicylsäure (nach PRA

3.2. Anwendungen der Iontophorese

3.2.1. Gesicherte Anwendungen

In der Neuroanatomie ist die Iontophorese verbreitet zur Erforschung von Neurotransmittern und elektrophysiologischen Zusammenhängen.

Therapeutische Anwendungen sind bekannt aus der Zahnheilkunde (GANGAROSA, 1978) bei der apikalen Periodontitis und im Bereich der HNO-Heilkunde am Trommelfell, z.B. zur Myringotomie (COMEAU, 1973). Als besonders einfache und wirkungsvolle Therapie gilt die Iontophorese bei der Hyperhydrosis (LEVIT, 1980).

3.2.2. Interessante Einzelfälle

Es gibt eine Reihe von Einzelfallberichten über die Anwendung der I. CORNWALL (1981) berichtet über die deutliche Verkleinerung eines ischämischen Geschwurs nach 20-tägiger iontophoretischer Behandlung mit Zinkoxidlösung.

VALKOV (1967) vom Geschwulstforschungsinstitut in Sophia veröffentlichte eine interessante Arbeit über die iontophoretische Behandlung der Röntgendummatitis ulcerosa mit niedrigdosiertem Penicillin. Bei 30 von 36 Patienten heilten die Strahlenschäden vollständig ab. Durchschnittlich fanden 25 Sitzungen von 5 - 20 Minuten Dauer statt. Auch bei dieser Arbeit gibt es keine Kontrollgruppe.

GARCIONE (1978) versuchte bei einer Patientin mit fortbestehenden Bewegungsschmerzen drei Monate nach einer operativen Frakturversorgung verschiedene physikalische Therapieformen einschliesslich der I. mit verschiedenen Stoffen. Erst nach der iontophoretischen Anwendung von SS kam es zu einer "dramatischen" Besserung (drei Behandlungen von je 10 Minuten).

3.2.3. Iontophorese bei rheumatischen Erkrankungen

Für die rheumatischen Erkrankungen liegt vergleichsweise viel Material vor. Es fehlen allerdings kontrollierte Therapiestudien, die einen Unterschied zwischen den summierten Einzelwirkungen von Strom und Pharmakon und der Iontophorese belegen konnten. Das ist um so wichtiger, als die Mehrzahl der Therapiestudien steroidhaltige Salben verwendet, also Pharmaka, die schon für sich allein genommen hoch wirksam sind. Die therapeutischen Erfolge erscheinen durchaus interessant, aber es gibt bisher wenig Material über die erreichbaren Gewebskonzentrationen.

Die Arbeit von COCCIA (1969) gibt einen Überblick über die relative Wirksamkeit der I. mit Butazolidin bei verschiedenen Indikationen. In 2 - 3 x 8 Sitzungen von 10 - 15 Minuten Dauer wurde je nach Verträglichkeit 5 - 30 mA angewandt. Die Studie umfasst 93 Patienten, zur Durchführung wird nur angegeben: 6 ml Phenylbutazon an der Kathode. Es werden keine Angaben über die Grösse der behandelten Fläche gemacht. Gute Ergebnisse wurden erzielt bei Tendovaginitis, Epikondylitis und Lumboschalgien ohne nachweisbare Diskushernie. Auch bei Distorsionen und Kontusionen zeigten sich gute Besserungen. Bei Arthrosen, Periarthropathia humeroscapularis und WS-Syndromen mit Diskushernien erschien die I. in der angewandten Form nur als Zusatztherapie sinnvoll. Diese Ergebnisse dürfen als repräsentativ angesehen werden.

GLASS und Mitarbeiter (1980) untersuchten die I. mit radioaktiv markiertem Dexametason am Rhesusaffen und erhielten lokale Gewebskonzentrationen, die auch in 17 mm Tiefe noch höher waren als die bei systemischer Anwendung erreichbaren, allerdings niedriger als die bei lokaler Infektion. Diese Werte versucht GLASS rechnerisch abzuschätzen. Mit Dexametason ergaben sich 10-mal höhere Gewebsspiegel unter der Anode als an den Kontrollflächen, während bei einem Pilotversuch mit Hydrocortison nur ungefähr 10% höhere Konzentrationen auftraten. Die beiden Rhesusaffen waren nicht in Vollnarkose, sondern nur leicht sediert, um störende Einflüsse der Anästhesie möglichst auszuschalten.

3.3. Iontophorese mit Salicylsäure

In den letzten zwanzig Jahren ist die SS als Antirheumatikum immer mehr von neueren Mitteln verdrängt worden. Häufige Anwendung findet sie nur als Externum in Salben und Badezusätzen. So überrascht es nicht, dass sich nur drei ältere Arbeiten über Iontophorese mit Salicylsäure auffinden liessen.

MAYERHOFER (1981) behandelte 50 Patienten mit Wirbelsäulensyndromen, Arthrosen und Überlastungssyndromen im Sinne von Tendomyosen mit jeweils siebenminütiger Iontophoretischer Applikation einer Salbe, die 9,3% SS sowie Salicylamid und verschiedene ätherische Öle enthält (DoloVisano S). Die Behandlungsergebnisse sind gut. Die Hyperämie hielt in jedem Fall über Stunden an. In zwei Fällen musste die Therapie wegen zu starker Reaktion abgebrochen werden. Der Therapiegruppe wird keine Kontrollgruppe gegenübergestellt, an der die Einzelwirkungen von Strom und Salbe erkennbar würden.

BERTINCHAMPS (1982) behandelte 24 Epikondylitis-Patienten mit Reparil-Gel - Iontophorese. Reparil enthält Aescin und 5% SS. Die Erfolge waren in 80% der Fälle gut und traten nach 8 - 13 täglichen Behandlungen von je 20 Minuten Dauer ein.

DE MEIRSMAN und ROSSELLE (1980) wandten ebenfalls Reparil Gel Iontophorese bei 25 Verstauchungen des Aussenknöchels und 15

Entzündungen der Achillessehne an. In dieser Studie wurden zwei gleichgrosse Kontrollgruppen mit denselben Erkrankungen nur mit galvanischem Strom behandelt. Ödem und Funktionseinschränkung bildeten sich unter Iontophorese im Schnitt etwa fünf Tage früher zurück. Nur in drei Fällen zeigte sich bei Iontophorese eine leichte Hautreizung.

4. Methodik

4.1. Probanden

Die Probanden waren subjektiv gesunde Medizinstudenten und Mitarbeiter des Instituts. Sie wurden angewiesen, sich am Morgen des Versuchstages nicht zu waschen. Versuchspersonen, die in der Woche zuvor Medikamente genommen hatten, wurden ausgeschlossen. Anamnestisch wurden folgende Daten erhoben: Alter, Grösse, Körpergewicht, Blutdruck und Pulsfrequenz in Ruhe, Medikation, akute und chronische Erkrankungen, Allergien, Rauchgewohnheiten, Schweissneigung.

Es ergaben sich keine pathologischen Befunde und auch in der späteren Auswertung keine Abhängigkeiten der Permeationszahlen von den genannten Parametern.

4.2. Versuchsdurchführung

Im Rahmen der Vorversuche wurden folgende Applikationsformen angewandt:

1. Vierzellenbad mit Anode auf dem Rücken und den Gliedmassen im Kathodenbecken.
2. Applikation sitzend im Stangerbad, wobei der Wasserspiegel nur bis zum Nabel reichte, und der Rücken für die Gegenelektrode freiblieb.
3. Applikation der Lösung mittels 1 cm und 3 cm dicker Viskoseschwämme (Firma Viskovit, Krefeld) und darüber gelegter Zinnlektrode von 1 mm Dicke.

Bei den ersten beiden Anwendungsformen war die benetzte Hautoberfläche nur ungefähr zu schätzen. Bei der Anwendung im Stangerbad bewirkte schon ein kleiner Strom (etwa 50 mA) unangenehme Sensationen im Genitalbereich und an den Knien. Deshalb wurde für die beiden folgenden Versuchserien die allgemein übliche Anwendung mit Schwammelektroden gewählt. Die dickeren Schwämme waren leichter gleichmässig feucht zu halten.

In der ersten Versuchserie wirkte bei sechs Versuchspersonen eine SS-Lösung von 0.5 g/l 30 Minuten lang auf 2 x 200 qcm Hautoberfläche der Oberschenkel ein. Die Versuchspersonen waren zwei Frauen und vier Männer im Alter von 22 - 46 Jahren. Mittels eines handelsüblichen Elektrotherapiegerätes (Eltron, Firma Enraf Nonius, Delft) wurde je nach Verträglichkeit ein Gleichstrom von 20 - 30 mA appliziert. Die Anode bedeckte den Rücken der Versuchspersonen, die beiden Anoden von je 20 x 10 cm waren parallel geschaltet.

Als Kontrolle diente die gleiche Anordnung ohne Anwendung von Strom. Zwischen den beiden Versuchen wurde ein zeitlicher Abstand von mindestens zehn Tagen eingehalten. Die Versuchspersonen sammelten bis 24 Stunden nach Versuchsbeginn ihren Urin und bestimmten den pH des Urins mit Spezialindikator pH 4,0 - 7,0

(Merck Nr. 9542). Da fast alle pH-Werte zwischen 5.0 und 6.0 lagen, wurden sie in die Auswertung später nicht weiter einbezogen.

Aufgrund der Tierversuche von PRATZEL und HILLMEIER wurde ein Teil dieser Gruppe von Versuchspersonen später noch für eine einstündige Gleichstromanwendung einbestellt.

In einer zweiten Serie von Versuchen wurde bei sechs Versuchspersonen fünf Tage nacheinander eine einstündige Iontophorese in der oben beschriebenen Art angewandt. Die Versuchspersonen waren fünf Frauen und ein Mann im Alter zwischen 20 und 53 Jahren. Neben dem Sammeln des Urins wurde täglich jeweils 10 Minuten nach Befestigen der Schwämme und Einschalten des Stomes 20 ml Blut abgenommen. Das Blut wurde nach dem Abkühlen 10 Minuten lang bei 2500 rpm zentrifugiert. Alle Urin- und Serumproben wurden bis zur Weiterverarbeitung bei - 20°C eingefroren.

Bei der SS handelte es sich um DAB-Qualität (Bayer Leverkusen, Charge 865252, RZ 6334 A). Vor dem Herstellen der Lösungen wurde die SS umkristallisiert und der Schmelzpunkt überprüft. Er lag bei 155°C. Die Lösungen für die I. wurden täglich frisch angesetzt und mit einem Magnetrührer 30 Minuten lang gerührt, bis die SS vollständig gelöst war.

4.3. Analytik

Zunächst wurde versucht, die Salicylsäure im Urin fluorometrisch zu bestimmen. Dies ist ein häufig verwendetes Verfahren, dass als zuverlässig gilt (MACDONALD, 1961).

4.3.1. Fluorometrie

4.3.1.1. Probenaufbereitung

Aus jeder Urinprobe wurden etwa 25 g in einen Kjeldahlkolben eingewogen. Die Portion wurde mit 25 ml 5N Schwefelsäure im Sandbad bei 98 °C für eine Stunde hydrolysiert. Das so erhaltene Hydrolysat wurde nach dem Abkühlen gewogen.

2 ml des Hydrolysats wurden gewogen und zweimal für 90 Sekunden mit je 8 ml peroxydfreiem Diäthyläther geschüttelt. Die Phasen wurden mit einem Scheidetrichter getrennt und dann mit 1 g wasserfreiem Natriumsulfat in einem Erlenmeyerkolben getrocknet. Der Natriumsulfat enthaltende Kolben wurde mit 4 ml Äther nachgewaschen. Die vereinigten Ätherphasen (20 ml) wurden mit gewogenen 2 ml Phosphatpuffer pH 7 ($0,2 \text{ mol/l KH}_2\text{PO}_4 + 0,02 \text{ N NaOH}$) wieder 90 Sekunden geschüttelt, getrennt und der zurückgewonnene Puffer mit Glykokoll-NaOH-Puffer pH 12 (je 0,1 N) auf 50 ml aufgefüllt. Diese Lösung diente als Messlösung zur Fluorometrie.

4.3.1.2. Kalibrierung

Für die Aufstellung der Kalibrierkurve wurde von einer SS-Stammlösung von 10 mg/l ausgegangen. Gewogene Mengen von 0,1 - 1 ml dieser Lösung wurden mit etwa 10 ml Puffer pH 12 verdünnt und gewogen. Fluorometriert wurde bei einer Anregung mit 309 nm bei 406 nm mit einem Spektrofluorometer (Jobin Yvon Spektrofluor JY 30). Es ergab sich eine Gerade mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,96.

4.3.1.3. Schwierigkeiten bei der Fluorometrie

Wie Abb. 3a und 3b zeigen, überlagerten sich auch bei pufferfreier SS-Lösung Spektralanteile aus dem Puffer mit denen der Salicylsäure. Die erwarteten Exzitations- und Absorptionsmaxima bei der SS 309 nm und 406 nm sind zwar deutlich erkennbar, aber nicht trennbar von den Maxima der anderen Stoffe. Im ersten Versuch waren die Spektren und die Messwerte nicht reproduzierbar. Bei Verwendung einer neuen Quarzküvette und einer Halterung ohne Spiegel ergaben sich Exzitationsmaxima von Puffer und Salicylsäure von 300 nm und 309 nm, die sehr nahe beieinander liegen (Abb. 4). Bei Mischlösungen ergaben sich reproduzierbare

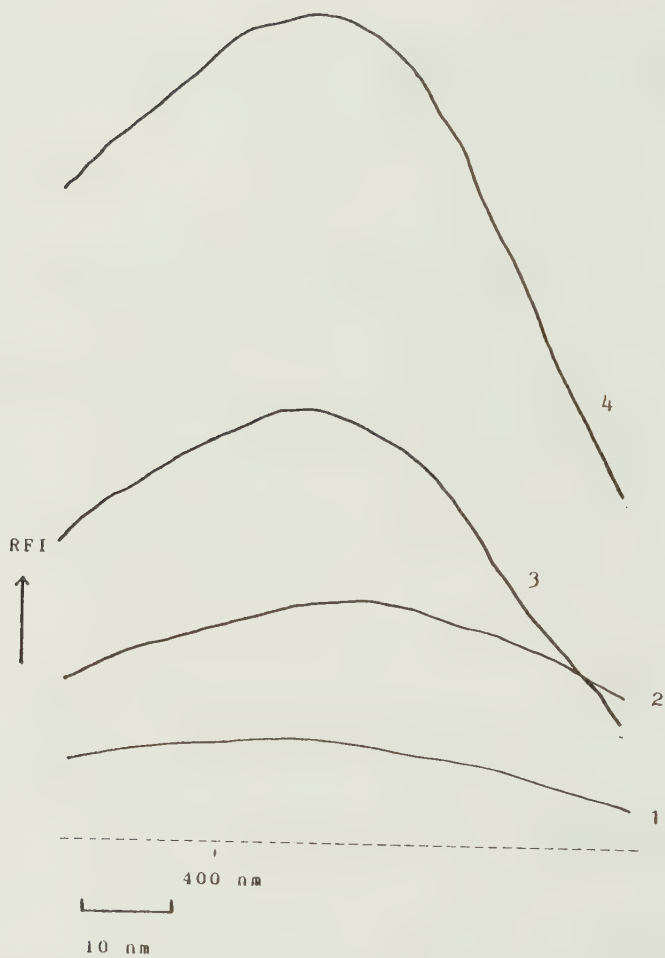


Abb. 3a : Fluoreszenzspektren von Wasser (1), Puffer pH 12 (2)
SS (3), Leerurin-Hydrolysat (4)

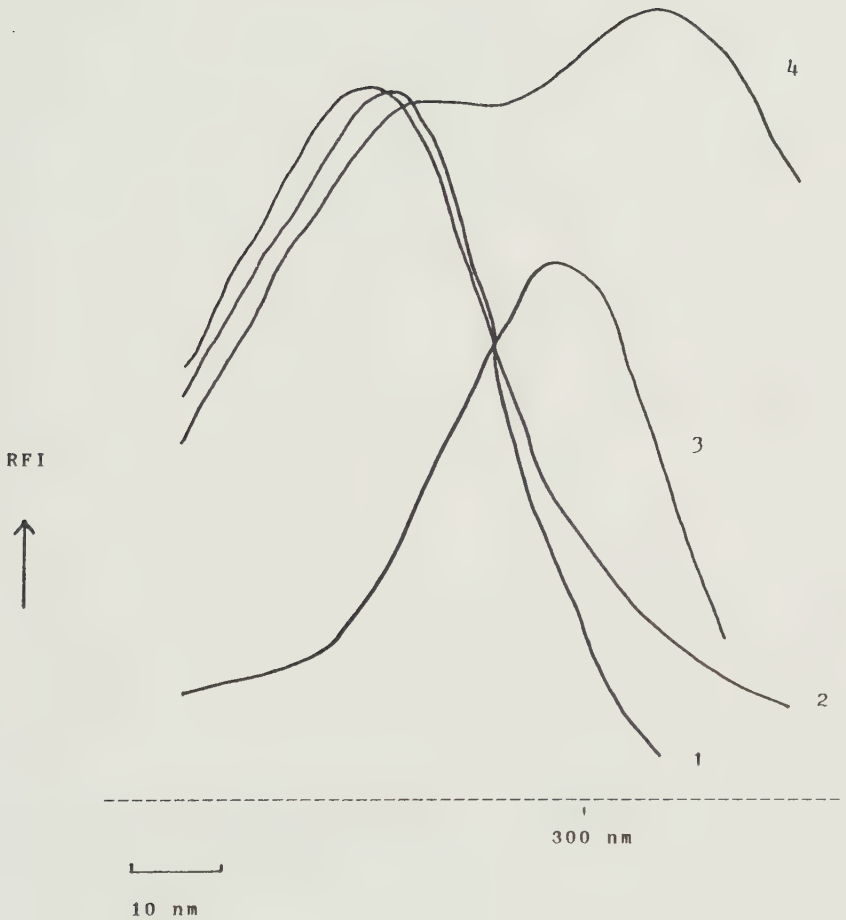


Abb. 3b : Excitationsspektren von Wasser (1), Puffer pH 12 (2),
SS (3), Leerurin-Hydrolysat (4)

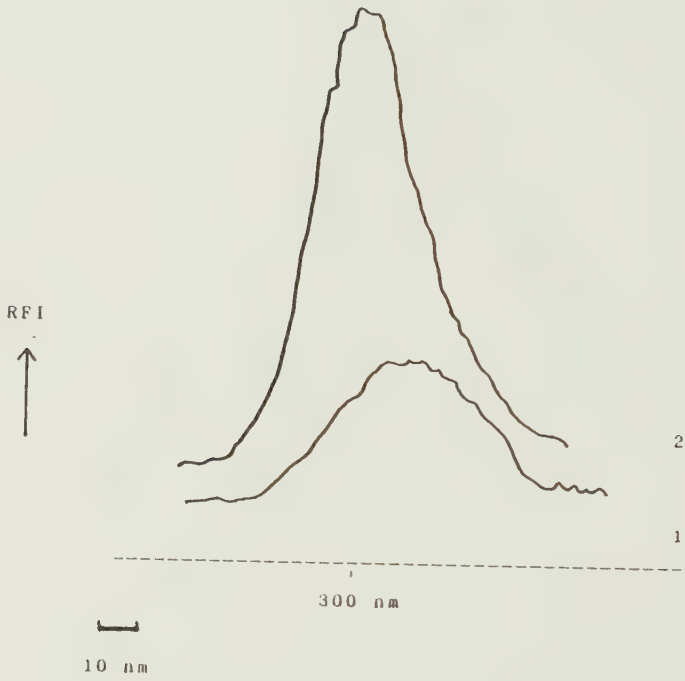


Abb. 4 : Excitationsspektren von Puffer pH 12 (1) und SS (2) bei 406 nm und hoher Verstärkung

Excitationsmaxima zwischen diesen beiden Werten. Schliesslich fand sich im Urin einer zuverlässigen Versuchsperson, die angab, keinen Kontakt mit SS gehabt zu haben, das Spektrum der Abb. 5 mit einem Excitationsmaximum im Bereich der SS. Da dies nur zwei von sechs Vpn betraf, liegt hierin möglicherweise der Grund für die unterschiedlichen Messergebnisse, die sich in der älteren Literatur bei ähnlichen Untersuchungen finden.

Um die genannten Schwierigkeiten und Ungenauigkeiten zu umgehen, wurde vor dem fluorometrischen Nachweis eine Trennung mittels HPLC versucht. Ein Vorteil der HPLC wurde auch darin gesehen, dass SU und andere Metabolite der SS so direkt nachweisbar würden und somit die Vollständigkeit der Hydrolyse keinen Unsicherheitsfaktor mehr darstellte.

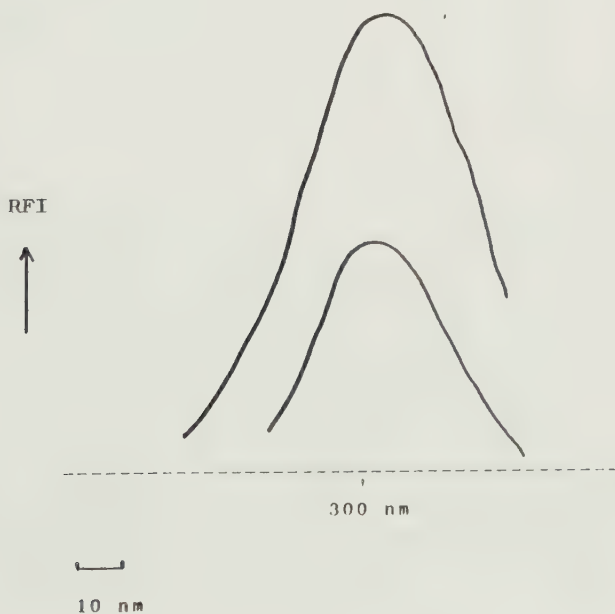


Abb. 5 : Excitationsspektrum zweier Leerurin-Hydrolysate bei 406 nm

4.3.2. Ausbeuteprüfung

Um die Ausbeute der Extraktion zu überprüfen, wurde salicylfreies Hydrolysat mit am C - 7 radioaktiv markierter SS (C-14) versetzt und 5-mal mit Äther geschüttelt und getrennt.

Tab. 2 Wiederfindungsraten von radioaktiv markierter SS in zwei Versuchen mit je 5-maligem Ausschütteln eines Urinhydrolysats mit Äther

	mg	%	%		mg	%	%
1	18.1	81.0	95.1	19.2	86.4	95.4	
2	0.73	3.3	3.8	0.8	3.6	4.0	
3	0.12	0.54	0.64	0.085	0.38	0.42	
4	0.016	0.07	0.08	0.020	0.091	0.1	
5	0.007	0.03	0.032	0.0054	0.027	< 0.1	
SUM-	19.05	85.2	100	20.11	90.5	100	
ME							
EIN-	22.35	100		22.22	100		
WAAGE							

Wie Tabelle 2 zeigt, befinden sich schon nach zweimaligem Schütteln ungefähr 99 % der insgesamt extrahierbaren SS in der Ätherphase. Insgesamt wurden aber nur 85 - 90 % der eingewogenen SS wiedergefunden. Die SS-Konzentration im Hydrolysat lag mit ungefähr 7 µg/l im Bereich der erwarteten Konzentration. Im weiteren Verlauf der Untersuchung wurde versucht, den Urin mit Extrelut-1 - Fertigsäulen aus Kieselgel (Merck Nr. 15371) zu extrahieren. Mit Chloroform als Lösungsmittel ergaben sich mittels HPLC Wiederfindungsraten von ca. 15 %, mit Äther bei zweimaliger Extraktion bis zu 60 %, wenn man die 12 ml Äther über insgesamt drei Stunden extrem langsam abtropfen liess. In einer dritten Fraktion fanden sich dann kaum mehr Begleitstoffe, aber immer noch SS und SU. Somit konnten wir die Angaben des Herstellers, bereits in der ersten Fraktion seien 80 - 100 % der SS wiederzufinden, nicht bestätigen. Die gesamte Wiederfindungsrate mit Extrelut streute von 20 - 120 %.

4.3.3. HPLC

Die moderne Analysenmethode der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) wird seit einigen Jahren auch für die Bestimmung von SS und ihren Derivaten in biologischen Flüssigkeiten benutzt (CHAM et al., 1980). Zur Anwendung kommen meisst "reverse phase"-C-18-Säulen und UV-Detektoren oder Fluorometer. Die kleinsten noch gemessenen Konzentrationen liegen zwischen 0,01 und 5 mg/l. Einzelheiten über die chromatographischen Bedingungen sowie die prächromatographischen Methoden einiger ausgewählter neuerer Arbeiten zeigt Tabelle 3.

Tab. 3 HPLC der SS : Übersicht über die Methoden und Ergebnisse ausgewählter Autoren (WFR=Wiederfindungsrate)

Autor Jahr	WFR %	Wellen- länge nm	Nach- weis- grenze	Flow ml/min	Eluent
PENG 1977	-	237	0.5	1	30% Acetonitril 70% 0.05 Phosphor- säure pH 2.5
BEKER- SKY 1977	90 ⁺⁵	240->350	0.3	2	50 Methanol 60 Wasser 1 Eisessig
CHAM 1980	94-113	313	0.5	3	2% Butanol 5% Essigsäure 10% Na-Sulfat
MAUL- DING 1980	-	296	<12.5	1	1% Methanol 40% Essigsäure
DAY 1981	-	310	5	2.5	15% Methanol 1.38% Essigsäure
DASCH 1983	87 ^{+12.2}	296->396	0.01	0.8	33% Methanol 67% 0.05m Phosphat 0.05m TBAHS
INGALLS 1983	-	301	1.5	5.0	75% 0.1m Oxalsäure 0.05m TBAHS 25% Acetonitril

4.3.3.1. Eigene HPLC-Versuche

Die vorliegende Arbeit lehnte sich im Nachweisverfahren zunächst an die Methode von DASCH, BRAUN und NOWACK (1983) an. Folgende Geräte wurden verwendet:

Berthold Schreiber mit 120 mm/h und 100 mV Vollausschlag
Mikroprozessor data trak model 73211

zwei Beckman-Pumpen 110 A

Spectra-Physics SB 4100 computing integrator

Säule Merck Lichrosorb RP 18 5 μ m (150 mm lang, Durchmesser 3 mm)

zwei Latek-HMV-P-Motorventile mit Rheodyne Rh 7110 Ventilen

Das Injektionsvolumen betrug 20 μ l. Die Flussrate betrug 0,8 ml/min. Der Eluent bestand zu 40 % aus Methanol und zu 60 % aus einem wässrigen Puffer, der wie folgt hergestellt wurde:

17g Tetrabutylammoniumhydrogensulfat (TBHAS) wurden in 70ml aqua bidest. aufgelöst und mit 4N NaOH auf pH 6-7 eingestellt. Diese Lösung wurde auf 100ml aufgefüllt, in einen Scheidetrichter überführt und dreimal mit je 10 ml Dichlormethan und zweimal mit je 10 ml n-Hexan ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde verworfen. 1,5 l 0,05 mol/l Na_2HPO_4 - Lösung (8,9 g/l) wurde mit einer 0,05 mol/l NaH_2PO_4 - Lösung (6,9 g/l) auf pH=7,5 eingestellt, mit aqua bidest. auf 2l aufgefüllt und durch ein Membranfilter (0,5 μ m) filtriert.

4.3.3.2. Schwierigkeiten bei der HPLC

Bei der im Vorigen beschriebenen Technik traten folgende Probleme auf:

1. Nach einigen Tagen regelmässiger Säulenbenutzung verringerten sich die Peakflächen für SS und SU. Zum Teil traten Doppelpeaks auf. Dieser Effekt konnte durch Kühlung der verwendeten SS-StammLösung und des Eluenten verringert werden. Dies war jedoch nicht regelmässig der Fall.
2. Beim Eindampfen des Standards nach der Extraktion traten nichtreproduzierbare Verluste an SS auf. Diese konnten durch Eindampfen im Eisbad reduziert, aber nicht in befriedigendem Masse ausgeschaltet werden. Es ergab sich keine eindeutige Abhängigkeit von der Extraktionstechnik (manuelles Ausschütteln, langsames Rotieren bei 0 Grad, zwei Minuten schnelles Rotieren auf verschiedenen Zentrifugen). Da aus den im Abschnitt Fluorometrie beschriebenen Versuchen eine hohe Wiederfindungsrate bekannt war, und in den HPLC-Versuchen die Wiederfindungsrate von 40 - 90 % streute, wurde dies als Nichtreproduzierbarkeit der Chromatographie gedeutet.
3. In den Leerurinen traten in reichlichem Ausmass Verunreinigungen auf, die von der SU nicht klar zu trennen waren.

Nach einigen Monaten des Experimentierens mit der Nachweismethode erschien es für den Untersucher aussichtslos, mit der beschriebenen Technik schnell zu korrekten Ergebnissen zu kommen. Die aus der zugänglichen Literatur bekannten Fehlerquellen bei der HPLC wurden bei den beschriebenen Versuchen berücksichtigt. BEKERSKY (1977) beschrieb das Auftreten von Begleitstoffen im Urin, die mit den SU-Peaks interferierten. Im Gegensatz zum Verfasser konnte BEKERSKY diese Verunreinigungen durch Nachwaschen der Ätherextrakte mit zweimal 1 ml Kochsalzlösung und 1 ml Wasser entfernen.

DAY et al. (1981) wiesen nach, dass bei bestimmten Formen der Probenaufbereitung der Methylester der SU gebildet wird. Dieser verursacht Peaks, die sich mit denen der SS überschneiden können, so dass in der Auswertung die SS zu hoch erscheint, und die SU erniedrigt wird. Diese Störung tritt auf, wenn mit Äther extrahiert wird, der Rückstand nach dem Eindampfen mit Methanol aufgenommen wird, und diese Probe vor der Chromatographie längere Zeit stehen bleibt. Begünstigt wird die Reaktion durch folgende Faktoren:

1. Katalyse durch Säure.
2. Methanol liegt im Überschuss vor.
3. Äther bildet mit Wasser ein azeotropes Gemisch und fördert die Kondensation von Glyzin und Methanol unter Bildung des Esters.

Vermeidbar ist dieser Fehler durch:

1. Schnelles Arbeiten ohne Verzögerungszeiten.
2. Aufnahme des Rückstands nicht mit reinem Methanol, sondern Zusatz entweder von Wasser oder einer anderen Carbonylgruppe z.B. in Form von Essigsäure, die die Reaktion kompetitiv hemmt.
3. Keine Extraktion des Urins, sondern nur Zentrifugieren und Filtrieren und direkte Chromatographie mit verdünntem Urin.

4.3.3. HPLC im Auftragslabor

Aufgrund der technischen Probleme wurden die tiefgefrorenen Urin- und Serumproben an das Auftragslabor L.A.B. weitergegeben (L.A.B. GmbH, Brühlweg 23, 7910 Neu-Ulm 4/Gerlenhofen, Tel. 07307/5071). Dieses Labor hat bei umfangreicherer technischer Ausstattung eine längere Erfahrung mit der HPLC. Hierzu sei auf die Arbeiten von JAEGER (1982) und NIEDER (1983) verwiesen, die im Literaturverzeichnis aufgeführt sind. Die HPLC gilt unter Fachleuten als technisch schwierige Methode, die man erst nach etwa einem halben Jahr beherrscht.

Bei L.A.B. wurde die HPLC mit folgenden Geräten durchgeführt:

Pumpe: Gynkotek M 600

Injektor: Rheodyne Rh 7125

Fluoreszenzdetektor: Jobin-Yvon JX 3

Integrator: Shimadzu C-R 1B

HPLC-Säule: 250 x 4 Shandon Hypersil ODS 5µm

Die Nachweismethode wurde wie folgt beschrieben:

Zu 1,00 ml Urin oder Serum gibt man 100 µl Phosphatpuffer pH 2,2 und 6,00 ml Diäthyläther. Nach dem Schütteln (30 Sekunden) und Zentrifugieren (5 Minuten, 4000 rpm) werden 5,00 ml der organischen Phase in Spitzglas pipettiert und im Eisbad unter Stickstoff eingedampft. Der Rückstand wird in 100 µl Laufmittel aufgenommen. 20 µl werden in das HPLC-System gegeben.

Die Flussrate betrug 2,5 ml/min. Die Anregungswellenlänge lag bei 308 nm und die Emissionswellenlänge bei 410 nm.

Die mobile Phase für Serum setzte sich folgendermassen zusammen:

Acetonitril : 5% Essigsäure 18:82 (v/v)

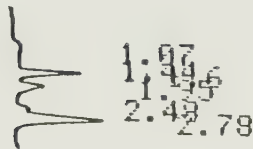
die mobile Phase für Urin:

PIC A (Waters) : THF : Methanol : Wasser 1:5:10:150 (v/v/v/v)

Es ergaben sich Retentionszeiten im Urin von 3,36 min für SU und 5,44 min für SS. Im Serum betrugen die Retentionszeiten 1,6 bzw. 2,8 min. wiedergegeben.

Die Wiederfindungsraten aus dem Urin lagen für SS bei 88 % und für SU bei 90 %, aus dem Serum bei 86 bzw. 89,5 %. In den Abb. 6 und 7 sind zwei typische Chromatogramme wiedergegeben.

START

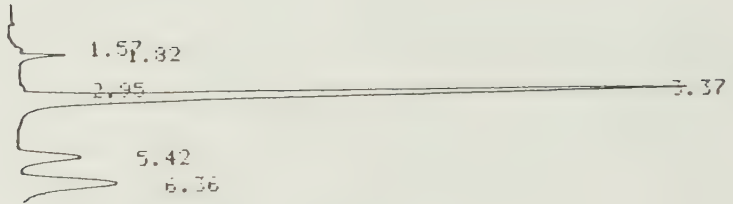


STOP

Abb. 6: Ein typisches Chromatogramm aus dem SS- und SU-Nachweis im Serum (Vp 9, 3. Tag des Aufsättigungsversuchs)

Zeit	Fläche (rel. Einh.)	
1.07	461	
1.44	424	
1.6	15696	SU 270.38 ng/ml
1.95	8666	
2.48	2952	
2.78	35505	SS 140.59 ng/ml
Summe	63705	

START



STOP

Abb. 7: Ein typisches Chromatogramm aus dem SS- und SU-Nachweis in Urin (Vp 9, 5. Tag des Aufsättigungsversuchs)

Zeit	Fläche, (rel. Einh.)			
1.57	1929			
1.82	21169			
2.95	2366			
3.37	437270	SU	18.05	ug/ml
5.42	57816	SS	0.09362	ug/ml
6.36	113647			
Summe	634200			

5. Ergebnisse

5.1. Vergleich von Permeation und Iontophorese

Bei den ersten sechs Versuchspersonen wurden einfache Permeation, halbstündige und einstündige Iontophorese verglichen. Bei drei Versuchspersonen wurden P und halbstündige I, bei einer Versuchsperson P und einstündige I und bei den letzten beiden alle drei Applikationsformen angewandt. In Tabelle 3 sind die 24-Stunden-Sammelurinmengen aus diesen Versuchen aufgeführt. In Tabelle 4 sind die SS-Konzentrationen und in Tabelle 5 die SU-Konzentrationen dieser Urine angegeben. Die letzte Spalte gibt jeweils die Stromdichte bei der Iontophorese in mA/qcm an.

Tab. 3 Sammelurinmengen (in kg) beim Vergleich von einfacher Permeation, halb- und einstündiger Iontophorese

Vp	P	I 30'	I 60'
1	1.879	1.170	-
2	1.250	1.496	-
3	1.703	1.504	-
4	0.681	-	1.006
5	0.722	0.853	1.047
6	2.135	0.745	2.003

Tab. 4 SS-Konzentrationen (in mg/ml) Sammelurin beim Vergleich von Permeation und Iontophorese

Vp	P	I 30'	I. 60'	Stromdichte (mA/qcm)
1	0.071	0.094	-	0.075
2	0.039	0.062	-	0.05
3	0.043	0.060	-	0.05
4	0.143	-	0.060	0.0875
5	0.189	0.105	0.126	0.075/0.08125
6	0.056	0.061	0.065	0.1

Tab. 5 SU-Konzentrationen (in ug/ml) im Sammelurin beim Vergleich von Permeation und Iontophorese

Vp	P	I 30'	I 60'	Stromdichte (mA/qcm)
1	0.33	2.24	-	0.075
2	3.11	3.09	-	0.05
3	1.03	2.04	-	0.05
4	3.13	-	20.49	0.0875
5	5.60	7.43	24.15	0.075/0.08125
6	0.88	3.36	14.60	0.1

In Tabelle 6 ist das jeweilige Konzentrationsverhältnis von SU zu SS ausgerechnet. Bei P ergeben sich SU : SS - Verhältnisse von etwa 5 - 70, bei I von etwa 25 - 220.

Tab. 6 Verhältnis von SU zu SS im Sammelurin beim Vergleich von Permeation und Iontophorese

Vp	P	I 30'	I 60'
1	4.6	23.8	-
2	79.0	49.7	-
3	24.0	34.2	-
4	21.9	-	341.5
5	29.6	70.5	191.5
6	15.7	54.9	223.9

Tabelle 7 zeigt die SS Mengen im Sammelurin, berechnet aus den Tabellen 3 und 4. Diese Mengen liegen im Bereich um 0,1 mg. P und I unterscheiden sich hier nicht. Tabelle 8 zeigt die entsprechenden Mengen von SU, berechnet aus Tabelle 3 und 5. Die SU-Werte liegen höher als die SS-Werte. Die drei Spalten unterscheiden sich deutlich, insbesondere fallen bei 60-minütiger I die SU-Mengen von 20- 30 mg auf.

Tab. 7 Gesamtmenge SS (in mg) im Sammelurin beim Vergleich von Permeation und Iontophorese

Vp	P	I 30'	I 60'
1	0.13	0.110	-
2	0.049	0.093	-
3	0.073	0.090	-
4	0.097	-	0.060
5	0.137	0.090	0.132
6	0.120	0.047	0.131

Tab. 8 Gesamtmenge SU (in mg) im Sammelurin beim Vergleich von Permeation und Iontophorese

Vp	P	I 30'	I 60'
1	0.620	2.621	-
2	3.887	4.623	-
3	1.754	3.068	-
4	2.132	-	20.61
5	4.043	6.338	25.28
6	1.879	2.503	29.24

In Tabelle 9 sind die Konzentrationen von SS und SU addiert. In Tabelle 10 die Gesamt mengen in mg angegeben. Diese Werte können als brauchbare Näherung für die gesamte permeierte und wiederausgeschiedene Salicylsäure gelten. Dies geht auch aus den Chromatogrammen hervor (Abb. 6), die keine weiteren SS-Metaboliten zeigen. Insbesondere SS-Glukoronide - falls vorhanden - wären als deutliche Peaks erkennbar gewesen.

Tab. 9 Addierte SS- und SU-Konzentrationen (in $\mu\text{g/ml}$) im Sammelurin beim Vergleich von Permeation und Iontophorese

Vp	P	I 30'	I 60'
1	0.401	2.334	-
2	3.149	3.152	-
3	1.072	2.099	-
4	3.273	-	20.55
5	5.789	7.535	24.28
6	0.936	3.42	14.66

Tab. 10 Addierte SS- und SU-Mengen (in mg) im Sammelurin beim Vergleich von Permeation und Iontophorese

Vp	P	I 30'	I 60'
1	0.75	2.73	-
2	3.94	4.72	-
3	1.83	3.16	-
4	2.23	-	20.67
5	4.18	6.43	25.42
6	2.00	2.55	29.36

Zum Schluss seien noch einmal einige Paare von Versuchen herausgegriffen. Tabelle 11 zeigt den Anstieg der SS-Exkretion unter 1. gemessen als SS + SU im Sammelurin. Eine Abhängigkeit von der Stromdichte zeigt sich im Bereich von $0,05 - 0,1 \text{ mA/cm}^2$ nicht.

Tabelle 12 zeigt bei drei Vpn die SS + SU - Werte beim Vergleich von halbstündiger Permeation und einstündiger Iontophorese. Es zeigt sich ein 6 - 14-facher Anstieg unter Iontophorese.

Tabelle 13 zeigt an zwei Vpn den 4 - 11-fachen Anstieg der permeierten Menge durch Verdoppelung der Iontophoresedauer.

Tab. 11 Salicylatmengen (SS + SU in mg) im Sammelurin beim Vergleich von Permeation und Iontophorese bei halbstündiger Applikation und verschiedenen Stromdichten (in mA/qcm)

Vp	P	I	Stromdichte
1	0.75	2.73	0.075
2	3.94	4.72	0.05
3	1.83	3.16	0.05
5	4.18	6.43	0.075
6	2.00	2.55	0.1

Tab. 12 Salicylatmengen (SS + SU in mg) im Sammelurin beim Vergleich von halbstündiger Permeation und einstündiger Iontophorese

Vp	P	I	Stromdichte
4	2.23	20.67	0.0875
5	4.18	25.42	0.08125
6	2.00	29.36	0.1

Tab. 13 Salicylatmengen (SS + SU in mg) im Sammelurin beim Vergleich von halb- und einstündiger Iontophorese

Vp	I 30'	I 60'
5	6.43	25.42
6	2.55	29.36

Um diese Ergebnisse zu erhärten, seien die jeweils ersten Tage aus dem im folgenden Abschnitt (5.2.) behandelten Aufsättigungsversuch mit einbezogen. Dann ergeben sich folgende mittlere SS + SU - Werte:

Bei einstündiger I 24,22 mg 9 Vpn (Vp 4- 12)

Bei halbstündiger I 3,92 mg 5 Vpn (Vp 1,2,3,5,6)

Bei halbstündiger P 2,49 mg 6 Vpn (Vp 1 - 6)

Die Werte dürfen in dieser Art zusammengefasst werden, da die Versuchsbedingungen beider Gruppen gleich waren.

5.2. Ergebnisse des Aufsättigungsversuches

Bei sechs weiteren Versuchspersonen wurde an fünf aufeinanderfolgenden Tagen eine Stunde lang Iontophorese angewendet, wobei die Versuchsbedingungen sich nicht von denen der ersten Gruppe unterschieden. Tabelle 14 zeigt die Körpergewichte der Versuchspersonen und ihre Sammelurinmengen an den einzelnen Versuchstagen. Die in Tabelle 14 in Klammern gesetzten Werte sind mit einer grösseren Ungenauigkeit behaftet, da hier die Versuchspersonen angaben, Urinportionen verloren zu haben. Diese fehlenden Mengen wurden geschätzt und zur vorhandenen Urinmenge addiert. Die Rohdaten der SS- und SU-Konzentrationen in den Sammelurinen finden sich in den Tabellen 15 und 16. Wie Tabelle 17 zeigt, liegt das Konzentrationsverhältnis SU : SS zwischen etwa 80 und 500. Die absoluten SS-Mengen pro Tag liegen um 0.1 mg (Tab. 18). Die SU-Mengen steigen bis über 60 mg pro Tag (Tab. 19).

Tab. 14 Sammelurinmengen und Körpergewicht (beides in kg) beim Aufsättigungsversuch

Vp	KG	Versuchstage				
		1	2	3	4	5
7	63	0.872	1.163	1.171	0.900	1.060
8	77	0.481	1.145	(0.425)	0.868	1.539
9	58	1.479	0.922	1.039	1.175	0.831
10	48	(0.839)	0.416	1.676	0.591	1.384
11	61	0.540	(0.575)	0.625	0.195	0.576
12	73	(2.020)	3.160	2.451	2.166	3.286

Tab. 15 SS-Konzentration (in ug/ml) im Sammelurin beim Aufsättigungsversuch

Vp	Versuchstage				
	1	2	3	4	5
7	0.127	0.159	0.138	0.171	0.131
8	0.108	0.124	0.092	0.135	0.094
9	0.064	0.080	0.179	0.092	0.094
10	0.096	0.068	0.036	0.056	0.070
11	0.111	0.166	0.148	0.209	0.172
12	0.080	0.077	0.707	0.081	0.050

Tab. 16 SU-Konzentration (in ug/ml) im Sammelurin beim Auf sättigungsversuch

Vp	Versuchstage				
	1	2	3	4	5
7	22.18	25.21	20.82	17.29	11.52
8	38.38	34.78	49.30	36.71	32.99
9	32.78	23.18	18.69	13.79	18.05
10	21.82	40.99	18.02	34.61	11.56
11	17.98	32.42	37.68	33.58	40.10
12	13.72	25.69	5.91	21.04	19.59

Tab. 17 Verhältnis der Konzentrationen von SU zu SS im Sammelurin beim Auf sättigungsversuch

Vp	Versuchstage				
	1	2	3	4	5
7	174.6	158.6	150.9	101.1	87.9
8	355.4	280.5	537.6	271.9	352.8
9	512.2	289.7	104.4	149.9	192.2
10	227.3	602.8	500.6	618.0	165.1
11	161.9	195.3	254.6	160.7	233.1
12	171.9	334.9	83.6	258.5	388.7
x	267.2	310.3	271.9	260.1	236.6

Tab. 18 SS-Menge (in mg) im Sammelurin beim Auf sättigungsversuch

Vp	Versuchstage				
	1	2	3	4	5
7	0.111	0.185	0.162	0.154	0.139
8	0.052	0.142	0.076	0.117	0.144
9	0.095	0.074	0.186	0.108	0.078
10	0.081	0.028	0.060	0.033	0.097
11	0.060	0.096	0.093	0.041	0.099
12	0.161	0.242	1.733	0.176	0.164

Tab. 19 SU-Menge (in mg) im Sammelurin beim Aufsättigungsversuch

Vp	Versuchstage				
	1	2	3	4	5
7	19.34	29.32	24.38	15.56	12.21
8	18.46	39.82	20.95	31.86	50.77
9	48.48	21.37	19.42	16.20	15.00
10	18.31	17.05	30.20	20.45	16.00
11	9.71	18.64	23.55	6.55	23.10
12	27.71	81.18	14.49	45.57	64.37

Tabelle 20 gibt die addierten Konzentrationen an (SS + SU) und Tabelle 21 die absoluten Mengen in mg. Die Berechnung beruht auf den Sammelurinemengen der Tabelle 14, deswegen finden sich hier wieder eingeklammerte Werte. Die letzte Zeile von Tab. 21 gibt die Durchschnittswerte aller Versuchspersonen an. Diese Werte reichen von knapp 7 mg bis über 80 mg. Diese Werte unterscheiden sich von Tag zu Tag kaum. Die letzte Spalte von Tab. 21 gibt die Mittelwerte jeder Vp über die Tage an.

Tab. 20 Addierte Konzentrationen (SS + SU in ug/ml) im Sammelurin beim Aufsättigungsversuch

Vp	Versuchstage					Stromdichte
	1	2	3	4	5	mA/qcm
7	22.31	25.37	20.96	17.46	11.65	0.1
8	38.49	34.90	49.39	36.85	33.08	0.1
9	32.84	23.26	18.87	13.88	18.14	0.081
10	21.92	41.06	18.06	34.67	11.63	0.1
11	18.09	32.59	37.83	33.79	40.27	0.1
12	13.80	25.77	5.98	21.12	19.64	0.15

Tab. 21 Gesamtsalicylat (SS + SU in mg) im Sammelurin beim Aufsättigungsversuch

Vp	Versuchstage					$\bar{x}$
	1	2	3	4	5	
7	19.45	29.50	24.54	15.71	12.35	20.31
8	18.51	39.97	(20.99)	31.98	50.91	32.47
9	48.58	21.45	19.60	16.31	15.08	24.20
10	(18.39)	17.08	30.26	20.49	16.10	20.46
11	9.77	(18.74)	23.64	6.95	23.20	16.39
12	(27.87)	81.42	14.66	45.75	64.54	46.85
$\bar{x}$	23.76	34.69	22.28	22.80	30.36	26.78

Die folgenden Tabellen stellen die Serumkonzentrationen von SS und SU bei demselben Versuch dar. Die Werte der jeweils ersten Spalte (Versuchstag 1) entsprechen noch einem Leerwert, da das Blut jeweils 10 Minuten nach Beginn der Iontophoreseapplikation abgenommen wurde. Die Tabellen 22 und 23 geben die Konzentrationen von SS und SU in ng/ml an. Der höchste gemessene Wert liegt knapp unter 0.001 g/l. Die Striche (-) bedeuten fehlende Werte. (Vp 12 verweigerte die Blutabnahme dreimal, drei weitere Proben konnten aus technischen Gründen noch nicht analysiert werden.)

Tab. 22 Salicylsäurekonzentration im Serum beim Aufsättigungsversuch (in ng/ml)

Vp	Versuchstage				5
	1	2	3	4	
7	83.22	41.71	67.77	90.74	230.62
8	89.65	173.88	517.88	285.58	-
9	169.44	118.48	140.59	583.74	340.82
10	487.48	201.98	140.65	265.04	329.08
11	284.31	126.21	89.04	-	-
12	-	78.08	-	-	751.97

Tab. 23 Salicylursäurekonzentration im Serum beim
Aufsättigungsversuch (in ng/ml)

Vp	Versuchstage				
	1	2	3	4	5
7	311.85	289.74	504.83	600.38	462.41
8	166.35	164.41	246.58	291.62	-
9	313.93	224.97	270.38	326.49	195.97
10	358.20	201.20	324.03	223.86	245.76
11	170.60	267.25	305.60	-	-
12	-	163.88	-	-	241.28

Wie Tabelle 24 zeigt, liegt das Verhältnis SU : SS im Serum zwischen 0.32 und 7.45. Das bedeutet, dass die SS etwa 12 - 76% der Gesamtmenge an Salicylaten im Serum ausmacht. In Tab. 25 wurde das intravasale Gesamtsalicylat nach folgender Formel abgeschätzt:

$$\text{SS}_{\text{ges}} = \frac{c_{\text{ges}} \cdot \text{KG}}{13}$$

SS intravasales Gesamtsalicylat
ges

c_{ges} Gesamtkonzentration SS + SU
ges

KG Körpergewicht

Die letzte Zeile von Tab. 25 gibt die Mittelwerte aller Vpn von Tag zu Tag an, die letzte Spalte die Mittelwerte der einzelnen Vpn über alle Versuchstage. Die Mittelwerte steigen von 2.17 m am ersten auf 3.36 mg am fünften Versuchstag. Die Mittelwerte der Vpn unterscheiden sich kaum voneinander.

Tab. 24 Konzentrationsverhältnis im Serum von Salicylursäure zu Salicylsäure beim Auf sättigungsversuch

Vp	Versuchstage				
	1	2	3	4	5
7	3.75	6.95	7.45	6.62	2.01
8	1.86	0.94	0.48	1.02	-
9	1.85	1.90	1.92	0.56	0.58
10	0.73	1.00	2.30	0.84	0.75
11	0.60	2.12	3.43	-	-
12	-	2.10	-	-	0.32

Tab. 25 Intravasales Gesamtsalicylat (in mg) im Serum beim Auf sättigungsversuch

Vp	Versuchstage					Stromdichte mA/qcm
	1	2	3	4	5	
7	1.91	1.61	2.77	3.35	3.36	2.60 0.1
8	1.52	2.00	4.53	3.42	-	2.87 0.1
9	2.16	1.53	1.83	4.06	2.39	2.39 0.081
10	3.12	1.49	1.72	1.81	2.12	2.05 0.1
11	2.13	1.85	1.85	-	-	1.94 0.1
12	-	1.36	-	-	5.58	3.47 0.15
x	2.17	1.64	2.54	3.16	3.36	2.56

5.3. Nebenwirkungen

Im Rahmen der Versuchsergebnisse sollen auch die möglichen Nebenwirkungen der Anwendungen nicht vergessen werden, da sie im Falle einer therapeutischen Nutzung wichtig sind.

Im Rahmen der Vorversuche mit dem Vierzellenbad wurde eine konzentrierte SS-Lösung von 3,9 g/l (Löslichkeit bei 37 °C) eingesetzt. Die Vp badete für eine Stunde Arme und Unterschenkel im Vierzellenbad. Nach drei Tagen schälten sich die Fingerbeeren, die Finger fühlten sich trocken an ("wie Teflon"). Nach etwa sieben Tagen schälte sich die Hornhaut grossflächig an den Zehen und den nicht belasteten Stellen der Fusssohlen. Unter der sich ablösenden trockenen Hornschicht befand sich frische, rosige-feuchte Haut. Die übrige Haut, vor allem die Handflächen und Unterarme, zeigten noch nach über 14 Tagen eine feine Schuppung. Auf Grund dieser Schädigung der Haut wurde für die späteren Versuche eine Konzentration von 0,5 g/l gewählt.

Bei einer Versuchsperson trat eine kleinflächige Verbrennung zweiten Grades am Rücken auf, als das Elektrodenblech während des Versuches verrutschte und längere Zeit direkt mit der Haut in Kontakt blieb. Vermutlich infolge des feuchten Schwammes, der den ganzen Rücken bedeckte, und der analgetischen Wirkung des Stromes fühlte die Versuchsperson keinen Schmerz.

Bei drei weiteren Vpn kam es ohne erkennbare Ursache zu ähnlichen Verletzungen. Möglicherweise handelte es sich um Verätzungen der Hautstellen, an denen der Elektrodenchwamm durch den Befestigungsgurt zu stark zusammengedrückt wurde. Bei wiederholten, stichprobenartigen Messungen mit pH-Papier ergab sich an der Hautseite des Schwammes immer ein pH von 5 - 6. Trotzdem erscheint es möglich, dass durch das regelmässige Befeuchten des Schwammes von der Kathode Hydroxyl- und von der Anode Wasserstoffionen auf die Haut gespült wurden. Diese Verletzungen traten nur bei den einstündigen Applikationen auf und wurden mit contractubex-Salbe behandelt. Bei mehr Erfahrung des Untersuchers wären diese Verletzungen wahrscheinlich vermeidbar gewesen.

Bei zwei empfindlichen Vpn trat schon nach zwei bis drei Behandlungsstunden eine leichte Schuppung der Haut auf, später auch ein anhaltender Juckreiz. Diese Nebenwirkung bei langen Behandlungszeiten ist aus der Elektrotherapie bekannt, wo normalerweise viel kürzere Behandlungszeiten gelten. Durch entsprechende Hautpflege mit Öl- und Kleiebädern lassen sich diese Störungen gut behandeln.

Die einstündigen Iontophoreseapplikationen machten die Vpn müde. Gegen Ende der fünftägigen Serien wurde die I als angenehmer empfunden.

Insgesamt waren die Nebenwirkungen als gering zu bewerten. Verätzungen mussten sich durch Verwendung von Schutzlösungen, wie sie IPSEK (1963) vorschlägt, vermeiden lassen. Bei höher konzentrierten Lösungen oder Salben muss durchaus mit heftigeren Hautreaktionen gerechnet werden, wie sie bei MAYERHOFER (1981) erwähnt werden (vergl. 3.3.). Besondere Beachtung verdient die Tatsache, dass in der Studie von MAYERHOFER eine Salbe verwendet wurde, die ätherische Öle enthält. Vermutlich sind die starken Nebenwirkungen, die er beschreibt, auf diese Begleitstoffe zurückzuführen.

6. Diskussion

6.1. Diskussion der Ergebnisse

Überblickt man die Literatur über die Iontophorese, so fällt auf, dass relativ viele Berichte - auch älterer Autoren - über die therapeutische Wirksamkeit vorliegen, dass aber die Iontophorese in der Praxis dennoch kaum verwendet wird. Zum Teil mag das an den fehlenden quantitativen Nachweisen von Permeation und Wirkung liegen. Dazu sollte diese Arbeit einen Beitrag leisten.

Die Ergebnisse zum Vergleich von Permeation und Iontophorese zeigen eine Steigerung der Permeation um etwa 60% durch die Iontophorese. Durch Verlängerung der I von 30 auf 60 Minuten versechsfacht sich die Permeation. Diese überproportionale Steigerung ist gut mit der Existenz einer Anlaufzeit vereinbar, wie PRATZEL und HILLMEIER (1984) sie für die Iontophorese am Schwein beschrieben haben. Auf Grund der Methodik der vorliegenden Arbeit kann für den Menschen noch keine Kurve der Permeationsrate unter I gezeichnet werden, die diese Anlaufzeit quantitativ zeigen würde.

Die Ergebnisse des Aufsättigungsversuchs zeigen bei den Werten für das intravasale Gesamtsalicylat (Tab. 24) deutlich ein Ansteigen von etwa 2,2 mg auf etwa 3,4 mg. Von einem steady state, wie er in der Arbeit von DASCH, BRAUN und NOWACK erreicht wurde, kann aber nicht gesprochen werden. Interessanterweise zeigt Tab. 24 für den zweiten Versuchstag kleinere Werte als für den ersten. Einige Vpn gaben an, während der Versuchstage mehr Urin produziert zu haben als normalerweise. Deshalb wurde zunächst vermutet, dass im Laufe des Versuches die Urinclearance der SS zunehmen könnte. Wie aber noch gezeigt wird, war das nicht der Fall.

Die Salicylatmengen in den Sammelurinen liegen über die einzelnen Tage in etwa gleich hoch. Der zweite und der letzte Versuchstag fallen auf mit fast 35 mg bzw. 30 mg. An diesen Tagen übertrifft die Salicylatausscheidung den Wert der anderen Tage. Dieses Ergebnis passt zum kleineren intravasalen Salicylat am zweiten Tag, obwohl keine Erklärung dafür gefunden wurde. Bei der kleinen Zahl von Versuchspersonen muss davor gewarnt werden, aus diesen Zahlen zu weitreichende Schlüsse zu ziehen.

Eine Kumulation der SS durch Iontophorese war unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht möglich, da die Halbwertszeit der SS im Serum 2,3 Stunden beträgt, und der Versuch nur alle 24 Stunden wiederholt wurde.

Zur weiteren Auswertung der Daten wurde in Tab. 26 der Versuch gemacht, aus den experimentellen Daten dieser Arbeit die renale Clearance der SS zu berechnen. In die Formel

$$C = \frac{\frac{c_{\text{Urin}} \cdot V_{\text{Urin}}}{c_{\text{Serum}}}}$$

C Clearance

c Urinkonzentration
Urin

c Serumkonzentration zur Halbzeit der Urinsammelperiode
Serum

V Harnminutenvolumen
Urin

wurden im Zähler die SS+SU - Mengen aus den 24-Stunden-Urinen und im Nenner die Mittelwerte aus je zwei Serumkonzentrationen (SS+SU) des Aufsättigungsversuchs eingesetzt. Es handelt sich also um die Clearance-Werte für jeweils die Zeit zwischen zwei Blutabnahmen. Diese Werte liegen, wie Tab. 26 zeigt, zwischen 15 und 80 ml/min. Die Clearance nimmt im Laufe des Versuchs etwas ab. Eine pharmakologisch befriedigende Erklärung dafür konnte nicht gefunden werden. Man konnte an eine Azidose durch die SS-Zufuhr denken. Dafür waren in den beschriebenen Versuchen die SS-Mengen allerdings zu klein. Ein niedriger pH des Urins hätte zu einer niedrigeren SS-Clearance führen müssen. Ein solcher Trend des Urin-pH wurde auch nicht beobachtet.

Tab. 26 Clearance-Werte für das Gesamtsalicylat (SS + SU) beim Aufsättigungsversuch (in ml/min)

Vp	1	2	3	4
7	37.18	45.32	26.97	15.76
8	43.26	50.34	21.73	-
9	81.60	39.49	20.80	15.85
10	20.45	27.33	44.08	26.75
11	15.99	33.07	-	-
x	39.70	39.11	28.35	19.39

Berücksichtigt man die Proteinbindung der SS, so muss die folgende abgewandelte Formel für die Clearance zur Anwendung kommen:

$$C = \frac{c_{\text{Urin}} \cdot V_{\text{Urin}}}{(1 - P) \cdot c_{\text{Serum}}}$$

P Proteinbindung x 100

Da die Proteinbindung der SS mit 50 - 70 % angegeben wird, erhöhen sich die Werte der Tab. 26 noch um den Faktor 2-3. Damit würden sich Clearance-Werte von 30 - 250 ml/min ergeben. Eine Clearance über 120 ml/min bedeutet, dass der betreffende Stoff in der Niere über die Filtration hinaus sezerniert wird. Möglicherweise wird die SS sowohl aktiv sezerniert als auch rückresorbiert. Eine aktive Rückresorption ist bekannt für Harnsäure, Ascorbat und Aminosäuren. Nach dem gegenwärtigen Wissensstand gilt für Salicylsäure der gleiche aktive Transportmechanismus wie für viele andere Pharmaka, z. B. Probenecid, Phenylbutazon und Thiaziddiuretika, die aktiv sezerniert werden. In der mir zugänglichen Literatur konnte ich keinen bekannten Clearance-Wert für die SS finden. Eine Anfrage bei der Firma BAYER ergab die Auskunft, ein Clearance-Wert für die SS sei in der Literatur bisher nicht angegeben worden.

6.2. Anregungen für weitere Untersuchungen

Unbedingt aufgegriffen werden sollte in späteren Untersuchungen die Anregung von IPSEK, die Elektroden mit entsprechenden Schutzlösungen vorzubehandeln. Die Verätzungsgefahr wäre geringer, und möglicherweise könnten die Versuchspersonen bzw. Patienten einen höheren Strom aushalten. Der hemmende Einfluss der Polarisierung wäre geringer. Dadurch müsste sich eine höhere Permeationsrate erreichen lassen.

Als Testsubstanzen sollten vor allem Stoffe und Zubereitungen mit bekannter hoher Permeation gewählt werden. Besser als SS wäre für Iontophorese-Versuche SS-Methylester geeignet, also eine gut permeierende Transportform, die im Körper SS abspaltet. Gegenüber der wässrigen Lösung, die in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, wäre aus einer Salbe eine höhere Permeation zu erwarten.

Für therapeutische Studien wurden auch Corticosteroide eingesetzt. Nach den bisher vorliegenden Arbeiten wäre auch bei geringen Dosen am Wirkort ein guter pharmakologischer Effekt zu erwarten.

Interessant wäre auch die Iontophorese-Anwendung über Gelenken von marumarierten Patienten, bei denen eine intraartikuläre Injektion kontraindiziert ist.

Möglicherweise führt die spezielle Applikationsform der I in manchen Fällen dazu, dass nur eine relativ kleine Dosis des Pharmakons benötigt wird, um am Wirkort die erwünschten Effekte auszulösen.

Hinweise dazu finden sich verstreut in der Literatur. SHOLKOFF (1967) wies bei lokaler Salbenapplikation in der Synovia höhere und vor allem länger anhaltende Spiegel von SS nach als bei gleich hohem Plasmaspiegel unter systemischer Applikation. GROBER (1968) erwähnt Symptome des Bromismus bei Iontophorese mit sehr geringen Dosen von Brom. Ähnliche Effekte werden derzeit bei den Transdermalen Therapeutischen Systemen mit Nitroglycerin diskutiert. Nitratpflaster, die 5-10 mg Nitroglycerin in 24 Stunden abgeben, wirken in vielen Fällen besser und gleichmässiger als orale Dosen von 1-3 x 5-120 mg Isosorbiddinitrat. Die nachgewiesenen Blutspiegel liegen dabei zum Teil durchaus im gleichen Bereich.

Diese Fragestellungen könnten der Grundlagenforschung in der Pharmakologie neue Impulse geben. Vielleicht lässt sich auch eine Form der Iontophorese finden, die ähnlich leicht zu handhaben ist wie das TTS-Pflaster - ein aufklebbarer Elektret etwa, also ein fixiertes elektrisches Feld, das Ionen in die Haut einwandern lässt.

Noch ungenutzte Möglichkeiten für die I wären auch denkbar in der Dermatologie und bei inneren Erkrankungen in der Anwendung als Segmenttherapie mit differenten Pharmaka.

Zur weiteren Klärung der Grundlagen wäre es auch noch wichtig, in kürzeren Abständen zu behandeln, um die Möglichkeit einer Kumulation näher zu untersuchen. Häufigere Blutentnahmen würden es ermöglichen, auch für den Menschen genaue Blutspiegelkurven unter Iontophorese zu zeichnen.

Ein Schwachpunkt der Iontophorese, der ihre weitere Verbreitung überwiegend auf Kurkliniken und Abteilungen für Physikalische Therapie beschränkt, liegt darin, dass ihre Anwendung doch recht zeitaufwendig ist. Da es sich bei der Iontophorese um eine parenterale medikamentöse Therapie handelt, wird man sie nur begrenzt an ärztliches Hilfspersonal delegieren können. Eine Injektion hat gegenüber der I den Vorteil, dass sie kaum Zeit beansprucht. Bei der gegenwärtigen Struktur der ärztlichen Gebührenordnungen haben zeitaufwendige Therapieformen beim niedergelassenen Arzt kaum eine Chance.

6.3. Folgerungen zur praktischen Anwendung der Iontophorese

I.

Gute therapeutische Erfolge sind auch bei kurzer Anwendung der Iontophorese beschrieben. Dosisabhängige pharmakologische Effekte mit Salicylsäure sind aber erst ab einer Anwendungszeit von 60 Minuten zu erwarten.

II.

Serumspiegel von SS, die für eine systemische Wirkung ausreichen, sind bisher mit Iontophorese noch nicht erreicht worden. Das wäre denkbar durch längere oder häufigere Anwendung einer höher konzentrierten Salbe.

III.

Die Verträglichkeit der Iontophorese für die Haut bei Anwendung hoher konzentrierter Salben oder anderer Zubereitungen muss noch untersucht werden.

IV.

Salbenpräparate zur Iontophorese sollten möglichst wenig Begleitstoffe, insbesondere möglichst keine Ionen, ausser dem interessierenden Pharmakon enthalten.

V.

Therapeutisch wichtig ist derzeit vor allem die lokale Wirkung der Iontophorese. Nach SHOLKOFF (1967) lassen sich durch lokale Applikation höhere und stabilere Synoviaspiegel bei niedrigeren Plasmaspiegeln erreichen als durch systemische Anwendung. Klinische Untersuchungen dazu sollten in Zukunft verstärkt durchgeführt werden.

7. Zusammenfassung

Therapeutische Anwendungen der Iontophorese mit Salicylsäure und anderen Stoffen haben gute Ergebnisse zu verzeichnen. Studien über die erreichbaren Konzentrationen am Wirkort fehlen bisher weitgehend.

PRATZEL und HILLMEIER (1984) wiesen mit Iontophorese am Schwein bis zu 100fach höhere Resorptionsraten von Salicylsäure gegenüber einfacher Permeation nach. In der vorliegenden Arbeit wurde an gesunden Versuchspersonen eine Salicylsäure-Lösung von 0.5 g/l auf 400 qcm Hautoberfläche angewandt.

An 6 Versuchspersonen wurde jeweils Permeation von 30 Minuten Dauer mit Iontophorese von 30 oder 60 Minuten Dauer verglichen. Die Salicylatausscheidung im 24-Stunden-Sammelurin wurde mittels HPLC als Summe aus Salicyl- und Salicylursäure bestimmt. Bei Permeation fanden sich im Sammelurin im Durchschnitt 2.5 mg Salicylat, bei gleichlanger Iontophorese mit 0.1 mA/qcm fast 4 mg und bei doppelt so langer Iontophorese (60 min) mehr als 24 mg. Dies entspricht den Ergebnissen von PRATZEL und HILLMEIER, die am Schwein eine etwa 30-minütige Anlaufzeit vor dem vollen Einsetzen der Iontophoresewirkung fanden.

Bei 6 weiteren Versuchspersonen wurde versucht, durch tägliche Wiederholung einer einstündigen Anwendung der Iontophorese mit 0.1 mA/qcm höhere Urin- und Serumspiegel zu erreichen. Nach fünftägiger Anwendung fanden sich im Schnitt 30 mg Salicylat im Sammelurin, was aber wegen der starken Streuung nicht als signifikant gelten kann. Die Konzentrationen von Salicyl- und Salicylursäure im Serum wurde ebenfalls mittels HPLC bestimmt und über das Körpergewicht auf das intravasale Gesamtsalicylat hochgerechnet. Im Mittel fand sich ein Anstieg von 2.2 mg auf 3.4 mg.

Danksagung

Herrn Diplomchemiker Dr. H. Pratzel danke ich für die Überlassung des Themas und seine freundliche und grosszügige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. H. Drexel danke ich für die Übernahme des Themas.

Ausserdem danke ich allen Mitarbeitern des Instituts und der Klinik für Physikalische Medizin für ihre grosse Hilfsbereitschaft und den nicht genannten Versuchspersonen für ihre Mitarbeit.

Lebenslauf

geboren am 22. Juli 1957	in München
1976	Abitur in München
1976 - 1978	Studium der Medizin an der Universität Regensburg
1978 - 1983	Studium der Medizin an der TU München
ab 1978	Studium der Ethnologie an der Universität München
14. April 1983	Approbation als Arzt Anerkennung als Kriegsdienstverweigerer Praxisvertretungen und Tätigkeit als wissenschaftliche Hilfskraft am IMBK
ab 1. März 1984	als praktischer Arzt in Landshut niedergelassen

8. Literaturverzeichnis

- (1) ARITA, T. HORI, R.
Studies on percutaneous absorption of drugs
Clin. Pharmacol. Bull. 18 (1970), 1045
- (2) BEKERSKY, I. DOXENBAUM, H.G. WHITSON, M.H. PUGLISI, C.V.
POCELINKO, R., KAPLAN, S.A.
Simultaneous determination of salicylic acid and
salicyluric acid in plasma and urine by high pressure
liquid chromatography
Analytical letters 10 (1970), 539-550
- (3) BENZINGER, WIRSCH
Klin. Wochenschr. 12 (1933), 1734
- (4) BERTINCHAMPS
L'emploi du Reparil Gel par ionisation dans les epicondylites
et styloïdites
Ars medici revue internat. ther. prat. 37 (1982), 1591-1595
- (5) CHAM, B.E., BOCHNER, F., IMHOFF, D., JOHNS, D., ROWLAND,
M.
Simultaneous Liquid Chromatographic Quantitation of Salicylic
Acid, Salicyluric Acid, and Gentisic Acid in Urine
Clinical Chemistry 26 (1980), 111 - 114
- (6) CLARKE, C.A.
Pharmacogenetics - A Study of Inherited Variability in the
Response to Drugs
Journal of Pharmacology Supplement 14 (1962), 20T - 30T
- (7) COCCIA, G., MAZZONI, C.
Immissione per ionoforesi di sostanze antiflogistiche in
ortopedia e traumatologia (Butazolidina)
Minerva ortopedica (Turin) 20 (1969), 429-431
- (8) COMEAU, M., BRUMMET, R., VERNON, J.
Local Anaesthesia of the ear by iontophoresis
Arch Otolaryngol 98 (1973), 114
zit. nach GANGAROSA (1981)
- (9) CORNWALL, M.W.
Zinc iontophoresis to treat ischemic skin ulcers
Physical Therapy (New York) 61 (1981), 359-361

- (10) DASCH, W., BRAUN, E., NOWACK, H.
Transdermale Salicylat-Resorption und Verhalten des
Cortisteroid-Plasmaspiegels nach epidermaler Applikation
einer antiphlogistisch wirksamen Salbe
Arzneim.-Forsch. 33 (1983), 1196-1199

- (11) DAY, R.O., DROMGOOLE, S.H., FURST, D.E., HIGUITE, C.,
PAULUS, H.E. Formation of Methyl Ester of Salicyluric
Acid during Quantitation of Salicyluric Acid in Urine by
High-Pressure Liquid Chromatography
Journal of Pharmaceutical Sciences 70 (1981), 1090-1092

- (12) DE MEIRSMAN, J., ROSSELLE, N.
Etude comparative des propriétés anti-oedémateuses et anti-
inflammatoires du Reparil-Gel administré par ionisation et
un groupe de contrôle traité par un courant galvanique
Ars medica - Rev. internat. ther. prat
(Nivelles, AMNUC, Gent)
35 (1980), 263-269

- (13) DIETZE, C.
Iontophorese bei rheumatischen Erkrankungen
Zeitschrift für die ärztliche Fortbildung (DDR)
73 (1983), 880-883

- (14) DREXEL, H.
Die kutane und perkutane Aufnahme von Badeinhaltsstoffen
Therapiewoche 30 (1980), 7013-7023

- (15) DUENGES, W.
Prächromatographische Mikromethoden
Hüthig: Heidelberg, Basel, New York (1979)

- (16) EDEL, H.
Fibel der Elektrodagnostik und Elektrotherapie
Theodor Steinkopff Verlag: Dresden (1977)

- (17) ENGELHARDT, H.
Hochdruckflüssigkeitschromatographie
Springer: Berlin Heidelberg, New York (1977)

- (18) EVANS, D.A.P., CLARKE, C.A.
Pharmacogenetics
Brit. med. Bull. 17 (1961), 234-240

- (19) FEBVRE,P., ALLACHE,J.M., JABOT,P., ARMOIRY,P.
Influence de l'excipient sur l'absorption du salicylate de glykol administre par voie cutanee et par voie rectale
C.R.Societe de Biologie et de Medecine (Paris)
164 (1970),1700-1705
- (20) FELDMANN,J.R., MAIBACH,H.J.
Absorption of some organic compounds through the skin
J. Invest. Dermatol. 54 (1970),399-404
- (21) FORTH,W., HENTSCHLER,D., RUMMEL,W.
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
Bibliographisches Institut: Mannheim, Wien, Zürich (1980)
- (22) FRANZ,T.J., GALLEY,W.R., VAN BRUGGEN,J.T.
Further observations on Asymmetrical Solute Movement across Membranes
J. Gen. Physiol. 51 (1968),1-12
- (23) FRANZ,T.J.
Percutaneous absorption. On the Relevance of in vitro data
J. Invest. Dermatol. 64 (1975),190-195
- (24) GANGAROSA,L.P., PARK,N.H.
Practical considerations in Iontophoresis of fluoride in, desensitizing dentin
Journal of Prosthetic Dentistry 39 (1978),173-178
- (25) GANGAROSA,L.P., PARK,N.H., WIGGINS,C., HILL,J.
Increased Penetration of Nonelectrolytes into Mouse Skin during Iontophoretic Water Transport (Iontohydrokinesis)
The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 212 (1980),377-381
- (26) GANGAROSA,L.P.
Defining a Practical Solution for Iontophoretic Local Anesthesia of Skin
Meth and Find Exptl Clin Pharmacol 3 (1981),83-94
- (27) GANGAROSA,L.P.
Iontophoresis in Dental Practice
Medical College of Georgia: Augusta (1978)
zit. nach GANGAROSA (1981)
- (28) GARZIONE,J.E.
Salicylate Iontophoresis as an alternative Treatment for Persistent Thigh Pain Following Hip Surgery
Physical Therapy (New York) 58 (1978),570-571

- (29) GIBSON, T., ZAPHIROPOULOS, G., GROVE, J., WIDDOP, B., BERRY, J.
Kinetics of Salicylate Metabolism
Br. J. clin. Pharmac. 2 (1975), 233-238
- (30) GLASS, M. J. et al.
The quantity and Distribution of Radiolabeled Dexamethason
Delivered to Tissue by Iontophoresis
Intern. J. Dermatol. 19 (1972), 519-525
- (31) GRASSO, P., LANSDOWN, A. B. G.
Methods of measuring, and factors affecting, percutaneous
absorption
J. Soc. Cosmet. Chem. 23 (1972), 481-521
- (32) GREILING, H., SCHULER, A.
Zur Wirkungsweise der Salicylsäure, Acetylsalicylsäure und
des Salicylamids
Z. f. Rheumaforschung 22, 23 (1963-1964), 47-56
- (33) GROBER, J., STIEVE, F. E.
Handbuch der Physikalischen Therapie
G. Fischer, Stuttgart: 1968
- (34) HANGARTER, W., PETERSEN, B.
Wirkung und Anwendung des Salicyls bei rheumatischen
Krankheiten
Münch. Med. Wochenschrift 35 (1951), 1730-1732
- (35) HANGARTER, W.
Die Salicylsäure und ihre Abkömmlinge
F. K. Schattauer: Stuttgart, New York (1974)
- (36) HARTMANN, F.
Percutane Resorption antirheumatischer Substanzen
Z. f. Rheumaforschung 27 (1968), 12
- (37) HERRMANN, F.
Biochemie der Haut
Thieme: Stuttgart (1973)
- (38) HILL, A. C., BAKER, G. F., JANSEN, G. T.
Mechanism of action of Iontophoresis in the treatment of
Palmar Hyperhidrosis
Cutis 28 (1981), 69-72
- (39) HOPMANN, F.
Über den Einfluss des Kohlensäurebades auf die Permeabilität
der Haut für Salicylsäure
Der Balneologe, Zeitschrift f. d. ges. Physikal. Ther.
6 (1939), 5-8

- (40) INGALLS, S.T., SCHWERKOSKE, J.S., FORMAN, W.B., HOPPEL, C.L.
Rapid and sensitive method for the determination of
salicylic acid in serum by reversed-phase ion-pair high-
performance liquid chromatography
Journal of Chromatography 274 (1983), 366-371
- (41) IPSER, J.
Elektrotechnische und elektrophysikalische Untersuchungen
der Iontophorese und Galvanisation
Elektromedizin 8 (1963), 180-186
- (42) JAEGER, H., KAPPLER, D., RASPER, J.
Bioverfügbarkeit von Arzneimitteln
Deutsche Apothekerzeitung 35 (1982), 1737-1742
- (43) JATZKO, H.
Wirkungsunterschiede von zwei verschiedenen Hyperämika auf
die Haut
Therapie der Gegenwart 109 (1970), 101-110
- (44) LEVIT, F.
Treatment of Hyperhidrosis by Tap Water Iontophoresis
Cutis 26 (1980), 192-194
- (45) LEVY, G.
Pharmacokinetics of Salicylate in Man
Journal of the Pharmaceutical Sciences 54 (1965), 959-967
- (46) LOTT, F.E.
The Decomposition of Salicylic Acid by Mould
Journal of The Society of Chemical Industry 22 (1903), 198
- (47) MACDONALD, R.P.
Salicylate
Standard Methods of Clinical Chemistry 4 (1961), 237-243
- (48) MARCUS, F.
The Role of the Vehicle and the Skin Barrier in the pH-
controlled, percutaneous Absorption of Salicylic Acid from
Creams
Diss. Abstr. Int. B35 (1975), 4974B
- (49) MARKS, R., PLEWIG, G. (ed.)
Stratum corneum
Springer: Berlin, Heidelberg, New York (1983)

- (50) MAULDING,D., YOUNG,J.F.
High-Pressure Liquid Chromatographic Analysis of Salicylic Acid, Salicyluric Acid, and Gentisic Acid in Biological Matrixes
Journal of Pharmaceutical Sciences 69 (1980), 1224-1226
- (51) MAYERHOFER,H.
Wirkungssteigerung einer hochdosierten Salicylatsalbe durch Iontophorese
Z. Allg. Med. 57 (1981), 633-636
- (52) MEYER,F., ZIEGENMEYER,J.
Percutane Aufnahme von Pharmaka
Deutsche Apothekerzeitung 37 (1974), 1407-1410
- (53) MONCORPS,C.
Untersuchungen über die Pharmakologie und Phaarmakodynamik von Salben und salbeninkorporierten Medikamenten. VII.Mitteilung: Über die Resorption der Salicylsäure aus freier Salicylsäure, Salicylate und Salicylester enthaltenden Einreibemitteln (Antirheumatika)
Archiv f. experiment. Path. u. Pharmakol. 163 (1931), 377-392
- (54) MUND-HOYM,W.D.
Die Wirkung von Salhumin-Bad bei rheumatischen und traumatisch bedingten Gelenkerkrankungen
Med. Welt 32 (1981), 1378-1381
- (55) MÜLLER,R.
Behandlung rheumatischer Erkrankungen mit Salhumin
Medizin. Klinik 45 (1932), 1571-1572
- (56) NIEDER,M., JAEGER,H.
Determination of Acetylsalicylic Acid and Salicylic Acid in Blood and Plasma by HPLC
Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications 6 (1983), 655-660
- (57) NIEDER,M.
Vergleichende Untersuchungen zur in-vitro-Freisetzung von verschiedenen Acetylsalicylsäure-Fertigarzneimitteln
Arzneimittelforsch. 33 (1983), 439-445
- (58) NOID,H.E., SCHULZ,E.T., WINKELMANN,R.K.
Diet Plan for Patients with Salicylate-Induced Urticaria
Arch Dermatol 109 (1974), 866-869

- (59) NORMAN, R.S.
Diffusional Spread of Iontophoretically Injected Ions
J. theor. Biol. 52 (1975), 159-162
- (60) PASCHER, F.
Systemic Reactions to Topically Applied Drugs
Bull. N.Y. Acad. Med. 49 (1973), 613-627
- (61) PENG, G.W., GADALLA, M.A.S., SMITH, V., PENG, A., CHIOU, W.L.
Simple and Rapid High-Pressure Liquid Chromatographic Simultaneous Determination of Aspirin, Salicylic Acid, and Salicylic Acid in Plasma
Journal of Pharmaceutical Sciences 67 (1978), 710-712
- (62) PRATZEL, H.
Grundlagen des perkutanen Stofftransportes in der Pharmako-Physiko-Therapie
Habilitationsschrift Med. Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität München (1984)
- (63) PRATZEL, H., HILLMEIER, J.
Zur perkutanen Resorption von Salicylsäure durch Iontophorese
Z. f. Physikal. Med. 13 (1984), 163-166
- (64) PRZERWA, M., ARNOLD, M.
Untersuchungen zur Durchlässigkeit der Haut
Arzneimittelforsch. 25 (1975), 1048-1053
- (65) PUTTEMANS, F.J.
Iontophoresis: Mechanism of Action Studied by Potentiometry and X-Ray Fluorescence
Arch Phys Med Rehabil 63 (1982), 176-180
- (66) REIN, H.
Experimente über Elektroendoosmose an überlebender menschlicher Haut
Z. Biol. 81 (1924), 125-140
- (67) ROBINSON, D., WILLIAMS, R.T.
Glucuronides of Salicylic Acid
Biochemical Journal 62 (1956), 23P
- (68) ROSENTHAL, R.K., BAYLER, T.B., FREMONT-SMITH, K.
Simultaneous salicylate concentrations in synovial fluid and plasma in rheumatoid arthritis
Arthritis Rheum. 7 (1964), 103

- (69) ROUTH, J.J., DRYER, R.L.
Salicylate
Standard Methods of Clinical Chemistry 3 (1961), 194-199
- (70) ROSSI, G.A., ZAMBONI, A.M., PERSICHELLA, M.
Interferenza di soluti estranei nella iontoforesi dell'
acido salicilico attraverso la pelle
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 56(1983), 806-812
- (71) SCHEUPLEIN, R.J., BLANK, H.J.
Permeability of the Skin
Physiological Reviews 51 (1980), 702-747
- (72) SCHULZE, W.
Die Bedeutung des "Vehikels" für die perkutane Resorption
Fette Seifen Anstrichmittel 66 (1964), 531-535
- (73) SCHULZE, W.
Gas-chromatographische Untersuchungen zur Frage der
Vehikelfunktion des Dimethylsulfoxids
Fette Seifen Anstrichmittel 70 (1968), 663-667
- (74) SCHULZE, W.
Modellversuche an isolierter Epidermis zur Prüfung der
Permeabilität der menschlichen Haut und der Kinetik des
Penetrationsvorgangs
Fette Seifen Anstrichmittel 73 (1971), 319-324
- (75) SCHWENKENBECHER, A.
Das Absorptionsvermögen der Haut
Archiv f. Anatomie u. Physiologie (1904), 121-165
- (76) SHAYA, S.J.
Percutaneous electrophoresis of amino acids and urea
Med. & Biol. Eng. 7 Comput. 16 (1978), 126-134
- (77) SHOLKOFF, S.J., EYRING, E.J., ROWLAND, M., RIEGELMANS, S.
Plasma and Synovial Fluid Concentrations of Acetylsalicylic
Acid in patients with Rheumatoid Arthritis
Arthritis & Rheumatism 10 (1967), 348-351
- (78) SHROFF, A.P.
High-Pressure Liquid Chromatography in Pharmaceutical
Analysis
Intern. Laboratory (1976), 9-14
- (79) SPITELLER, M., SPITELLER, G.
Trennung und Charakterisierung saurer Harnbestandteile
Journal of Chromatography 164 (1979), 253-317

- (80) STOLAR, M.E., ROSSI, G.V., BARR, M.
The effect of various ointment bases on the percutaneous absorption of salicylates II. Effect of surface active agents
J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed. 49 (1960), 148
- (81) TERWEIJ-GROEN, C.P., VAHLKAMP, T., KRAAK, J.C.
Rapid, direct determination of trace amounts of salicylic acid in deproteinized serum by means of high-pressure liquid chromatography
Journal of Chromatography 145 (1978), 115-122
- (82) TEYSSANDIER, M.J., RADAELLI, E.
La dielectrolyse des anti-inflammatoires
La Riabilitazione 15 (1982), 19-27
- (83) VALKOV, V.S.
Zur Behandlung der Röntgendermatitis bullosa et ulcerosa
Radiobiologia Radiotherapia (Internat. Z. f. d. Gebiet d. Strahlentherapie, Strahlenbiologie, Strahlenphysik und Nuklearmedizin) (DDR) 8 (1967), 553-556
- (84) WAHLBERG, J.E.
Skin Clearance of Iontophoretically administered Chromium (Cr-51) and Sodium (Na-22) Ions in the Guinea Pig
Acta Dermatovenere (Stockholm) 50 (1970), 255-262
- (85) WEISS, J.F. von, LEVER, W.F.
Percutaneous Salicylic Acid in Psoriasis
Archives of Dermatology 90 (1964), 614-619
* (mit 30 Literaturhinweisen u. a. zur pH-Abhängigkeit der SS-Exkretion)
- (86) WURBACH, G.
Die Salicylsäureausscheidung im Urin nach perkutaner Penetration
Dermatol. Wochenschrift 149 (1964), 609-613
- (87) WURSTER, D.E., KRAMER, S.F.
Investigation of Some Factors Influencing Percutaneous Absorption
J. Pharmac. Sci. 50 (1961), 288-293
- (88) ZIGIR, E.H. -russisch-
(Die Rolle der Neben-Ionen bei der Elektrophorese und die Anwendung einer Ionenaustausch-Membran zu deren Beseitigung)
Woprossny Kurortologii (Moskau) (1970), 299-303

- (89) ZIGIR, E.H., FRIEDRICHSBERG, D.A., MAKEJEWA, K.W. -russisch-
(Leistungsfähige Elektrophorese von komplizierten
organisch-chemischen Ionen unter Anwendung von
Ionenaustausch-Membranen)
Woprossny Kurortologil (Moskau) (1972), 434-436

